

**DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIAL DE
SIEMBRA DE LULO *Solanum quitoense* L.**

XIMENA ANDREA RUIZ ERAZO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2009**

**DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIAL DE
SIEMBRA DE LULO *Solanum quitoense* L.**

**Proyecto de grado presentado como requisito parcial para optar el título de
Ingeniera Agropecuaria**

XIMENA ANDREA RUIZ ERAZO

**Directores
CONSUELO MONTES ROJAS, M Sc.
JOSÉ LUIS HOYOS, Esp**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2009**

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del director

Firma del codirector

Popayán, 7 de Septiembre de 2009

A Dios que me dio la oportunidad de vivir y especialmente A mi Madre por fomentar en mí, valores de honestidad, superación y esfuerzo, si no fuera por su sacrificio este sueño no lo habría cumplido

AGRADECIMIENTOS

A la Profesora Consuelo por haberme guiado en el desarrollo de este proyecto, por su constante apoyo.

Al Profesor José Luis Concha por su asesoría y apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Al Centro de Agricultura Tropical y al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (Universidad del Cauca) por su colaboración en la financiación de este proyecto.

A Marta Almanza Ph.D, por su acompañamiento a través de observaciones y sugerencias que han sido de gran importancia para el proceso de investigación.

Al Ing. Agr. Fabio Prado por la colaboración que me brindo para poder realizar las entrevistas a los productores de lulo.

Al Ing. Civil Víctor Felipe Terán por su apoyo en la realización del diseño del vivero.

A María Eugenia Buitrago de CIAT, por haberme enseñado a trabajar en el laboratorio y por toda la colaboración que recibí en el desarrollo de este proyecto.

A mi hermano porque sé que puedo contar con él en todo momento.

A mi amiga Franciel por sus consejos, por su cariño y colaboración.

A Manuelita que me ha acompañado durante todos estos años. A mi familia que aunque no los nombro a todos, agradezco el apoyo que me brindaron.

A mis Profesores por haber compartido sus conocimientos.

A mis Compañeros, amigos y a todos aquellos quienes me brindaron su amistad durante todos estos años de Universidad.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	14
2. MARCO TEÓRICO	16
2.1 GENERALIDADES DEL LULO <i>S. quitoense</i>	16
2.1.2 Descripción taxonómica	16
2.1.3 Ecología	17
2.1.4 Descripción botánica	17
2.6 METODOS DE PROPAGACIÓN	17
2.1.5 Métodos de propagación	17
2.6.1 Fases del proceso de micropropagación	19
2.6.2 Problemas asociados al cultivo in vitro	22
2.2 VIVEROS	24
3. METODOLOGÍA	28
3.1 LOCALIZACIÓN	28
3.2 MATERIAL VEGETAL UTILIZADO	28
3.3 ACTIVIDADES REALIZADAS	29
3.3.1 Protocolo para multiplicación de yemas	28
3.3.2 Construcción de instalaciones mínimas necesarias para propagación de frutales	35
3.3.3 Colecta y sistematización del conocimiento tradicional sobre la producción de material de siembra en lulo	36

4. RESULTADOS	37
4.1 Protocolo para la multiplicación <i>in vitro</i> de lulo	37
4.2 Construcción de instalaciones mínimas necesarias para propagación de frutales	48
4.3 Colecta y sistematización del conocimiento tradicional sobre la producción de material de siembra en lulo	52
5. CONCLUSIONES	57
6. RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	64

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Medios de micropropagación evaluados en lulo	19
Cuadro 2. Medio de micropropagación evaluado en lulo <i>S. quitoense</i>	30
Cuadro 3. Tratamientos evaluados en la multiplicación de yemas	32
Cuadro 4. Porcentaje de contaminación por réplica	37
Cuadro 5. Prueba de Duncan ($p < 0,05$) para las variables evaluadas en los tres clones de lulo bajo los ocho tratamientos.	41
Cuadro 6. Fase de aclimatación de plántulas para los tres clones evaluados	46

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Fases del proceso de micropropagación	20
Figura 2. Criterios para establecer un vivero	25
Figura 3. Clones proporcionados por ciat para la multiplicación <i>in vitro</i> en el laboratorio de biotecnología de la facultad de ciencias agropecuarias	28
Figura 4. Acondicionamiento del techo del laboratorio de biotecnología	29
Figura 5. Multiplicación de explantes en el laboratorio de biotecnología	30
Figura 6. Tratamientos evaluados y tipos de sellado utilizados	32
Figura 7. Sustratos utilizados para el trasplante de las vitroplantas	34
Figura 8. Actividades para la construcción del vivero	35
Figura 9. Morfogénesis de las plantas de acuerdo a los tratamientos utilizados, sello con vinipel (a) y sello con espumilla (b)	38
Figura 10. Tasas de crecimiento para los clones PL-19, JY-E1 y PH-E1	39
Figura 11. Sistemas radiculares observados en plántulas que entraron a etapa de aclimatación.	47
Figura 12. Plano de localización para ingreso al vivero en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca	48
Figura 13. Vista frontal del vivero para propagación de frutales en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca	49
Figura 14. Distribución de áreas internas en el vivero	50
Figura 15. Distribución de áreas en el vivero para propagación de frutales	51
Figura 16. Procesos de desinfección de semillas realizados por los productores	53
Figura 17. Lavado de la pulpa de lulo para selección de semilla	54

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Preparación de soluciones stock de micro y macrominerales	64
Anexo B. Preguntas base para la entrevista realizada a productores sobre la producción de material de siembra en lulo	65
Anexo C. Anova de los efectos de los tratamientos sobre cada una de las variables evaluadas	67
Anexo D. Prueba de Duncan realizada para las variables evaluadas en los clones PL-19, PH-E1 y JY-E1.	71
Anexo E. Presupuesto para la construcción de vivero (9m x 6m) para multiplicación de material de siembra.	73

RESUMEN

El presente estudio se enfocó en el desarrollo de estrategias para la obtención de material de siembra de lulo con interés comercial para el departamento del Cauca. Se trabajó con una metodología de multiplicación *in vitro* a partir de yemas axilares de explantes de lulo. Las variables evaluadas fueron: altura (cm), número de hojas, número de entrenudos y número de raíces. Para el análisis de la información, se utilizó un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones. Los resultados fueron sometidos a un ANOVA, que mostró la existencia de diferencias estadísticas significativas, por lo que se procedió a realizar un test de Duncan. También se dispuso una instalación mínima para propagación de lulo tomando como base la reglamentación planteada en la Resolución 02407 del ICA. Para la colecta de información, se seleccionaron cinco municipios productores de lulo en el departamento del Cauca, y se realizaron entrevistas a pequeños y medianos productores de las zonas. En cuanto a los resultados se observó que con el uso de espumilla como sello para los recipientes, se obtuvo un buen desarrollo morfológico de los explantes, hubo además morfogénesis completa en los tres clones utilizados, PL-19, JY-E1 y PH-E1. Por otra parte, la instalación propuesta para la producción y multiplicación de material de siembra permitió un manejo adecuado de las plántulas en la etapa de aclimatación. Finalmente, la colecta del conocimiento tradicional mostró que los productores realizan selección de plantas madres para propagar, pero presentan falencias en el proceso de desinfección de semillas y sustratos.

ABSTRACT

The present study was focused on the strategies' development to obtain lulo's sowing material to be commercialized in the Department of Cauca. The applied methodology was the *in vitro* multiplication from "axilares" leaf buds of lulo's "explantes". The variables evaluated were: height (centimeters), leaves number, "entrenudos" number, and roots number. A random design that counted on eight treatments and three repetitions was implemented to analyze the information. The results were subjected to an ANOVA that showed the existence of significant statistic differences and a Duncan test was applied. Besides this, an installation that took into account the regulation seen on the ICA's resolution 02407, was disposed. In addition, 5 lulo's producer villages in the departments of Cauca were chosen to collect information. Small and medium producers were interviewed. As regards the results, the foam's use to seal up the containers permitted a good morphologic development of the "explantes". Besides, there was a complete morphogenesis on the used clones PL-19, JY-E1 y PH-E1. On the other side, the proposed greenhouse for the production and multiplication of sowing material permitted an adequate management of the "plántulas" in their acclimatization period. Finally, the traditional knowledge collect showed the producers select "plantas madre" to spread, but they present some misstatements in the process of seeds and substratum disinfection.

INTRODUCCIÓN

El lulo *Solanum quitoense* Lam., es una de las frutas exóticas más apetecidas en los mercados nacionales e internacionales, debido a su colorido y al sabor agri dulce de la pulpa que la hacen atractiva en comparación con otras frutas (Lobo y Medina, 1999). Esta especie es también conocida con los nombres de: Naranjilla en el Ecuador, Morella y Naranjilla de Quito en el Perú y lulo en Colombia (Morton, 1987).

A pesar de la reconocida importancia que tiene el cultivo de lulo para la generación de ingresos en la economía familiar campesina de pequeños y medianos agricultores de Colombia, este cultivo ha tenido poco desarrollo tecnológico, la calidad y productividad presentan alta variabilidad, debido principalmente a la falta de variedades reconocidas y de material de siembra de buena calidad genética y fitosanitaria. Para que el cultivo de lulo sea una alternativa rentable para los productores se necesitan materiales homogéneos que garanticen una buena producción, alta calidad de los frutos y bajos costos de producción, para lograr este objetivo es vital un material de siembra que posea características como; buena arquitectura de la planta, buena capacidad productiva y libre de la presencia de enfermedades y plagas que permitan ir disminuyendo los riesgos de diseminación de enfermedades, lo cual puede lograrse a través de diversas técnicas biotecnológicas, entre ellas por medio de la micropropagación clonal (Fory, 2005).

Normalmente, el lulo *Solanum quitoense* Lam., es propagado sexualmente, es decir usando semillas, y aunque la propagación vegetativa a través de estacas, es más sencilla y muy eficiente, no se recomienda por el riesgo de la diseminación de enfermedades (Fory, 2005). Actualmente se trabaja en la micropropagación a través del cultivo de meristemos, como una forma alternativa de propagación que ha mostrado importantes ventajas en comparación con los sistemas tradicionales. En Colombia esta técnica es utilizada en centros de investigación y producción de lulo, para lograr una rápida propagación clonal, de un gran número de plántulas en un corto período y con poca mano de obra. Otra de las ventajas importantes que confiere esta técnica es la de eliminar la presencia de enfermedades y plagas de diverso tipo incluyendo fitoplasmas y virus en el material de siembra, disminuyendo así los riesgos de diseminación de enfermedades a través de la propagación vegetativa (Hendrix *et al*, 1987; Segovia, 2001).

Este trabajo tuvo como propósito desarrollar estrategias de cultivo *in vitro* (micropropagación) para la obtención de material de siembra de lulo con interés comercial para el departamento del Cauca, con el fin de mejorar calidad de fruto y

producción, de tal forma que las plántulas obtenidas este proceso puedan ser una opción de material de siembra con mejores características productivas y menos posibilidades de presencia de enfermedades para pequeños agricultores.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL LULO *S. quitoense*

S. quitoense, es una planta arbustiva que produce frutos de pulpa verde, ricos en minerales y vitamina C. Debido a su valor nutritivo, sabor, color y usos en la agroindustria, es una de las frutas tropicales más apetecidas (fruta fresca, pulpa congelada), en los mercados nacionales e internacionales, con amplias perspectivas para la exportación a los mercados de Japón, Estados Unidos y Comunidad Europea (Lobo y Medina, 1999). Sin embargo, la demanda se ha reducido debido al sistema de producción utilizado que se caracteriza por el uso de altas cantidades de pesticidas, detectándose trazas de ingredientes activos, no permitidos en los mercados internacionales, mercados que manejan el concepto de presencia o no de trazas para calificar, permitir o rechazar la entrada de frutas exóticas a dichos mercados.

2.1.2 Descripción taxonómica

Reino:	Vegetal
División:	Angiospermae
Clase:	Simpétala
Orden:	Tubifloral
Familia:	Solanaceae
Género:	Solanum
Especie:	<i>S. quitoense</i> Lam.
Variedades:	<i>quitoense</i> (Schultes y Cuatrecasas), tallos sin espinas. <i>septentrionale</i> (Schultes y Cuatrecasas), tallos con espinas.

Nombre Común: Lulo, naranjilla, berenjena de olor y chipiguaba.

Fuente: Schultes & Cuatrecasas, 1962.

2.1.3 Ecología. El lulo es una planta semisilvestre que crece en ecosistemas abiertos, especialmente en sitios frescos y sombreados, su desarrollo es mejor en áreas con temperaturas moderadas entre 14 y 22 °C, no soporta temperatura inferiores a los 12 °C ni superiores a los 24 °C, se debe tener en cuenta que esta especie no tolera heladas así sean de baja intensidad. Requiere abundante humedad (zonas entre los 800 y 2000 m de altitud), en suelos fértiles que no sean arenosos y en pendientes bien drenadas con precipitación pluvial mínima de 1.500 mm/año (Morton, 1987).

2.1.4 Descripción botánica. El lulo, puede llegar a alcanzar 2.5 m de altura, la corteza del tallo es de color gris. Las hojas están adheridas a las ramas por un peciolo pubescente y succulento de aproximadamente 15 cm de largo, en la variedad *septentrionale*, las nervaduras presentan espinas. Dependiendo de la temperatura las hojas pueden alcanzar hasta cerca de 1 m de altura y 1 m de ancho en su extensión, son de color verde oscuro con nervaduras de color púrpura en el haz y blancas purpúreas en el envés. Toda la planta excepto en el haz de las hojas, tiene pubescencia lanosa y todas sus partes son espinosas excepto las flores y el fruto. Las flores son de color blanco o lila claro, se agrupan en racimos en un peciolo corto que contiene hasta 10 flores justamente debajo y frente a las hojas. El fruto es una baya globosa entre 4 y 6.5 cm de diámetro, cubierta de tricomas de color amarillo o en algunos casos marrones fáciles de desprender en la cosecha. La corteza del fruto es de color amarillo intenso cuando alcanza la madurez. La pulpa es de color verde oscuro, pegajosa, ácida con un pH entre 3.5 a 5.0. La planta tiene un ciclo biológico de tres a cuatro años de producción constante, iniciando fructificación a los 8-10 meses de edad, pudiéndose observar en una misma planta flores y frutos en diferentes tamaños y coloridos durante todo el año (Schultes y Cuatrecasas, 1962).

2.1.5 Métodos de propagación. El lulo se puede propagar en forma sexual (por semilla) y asexual por estacas, injertos, rebrotes, yemas o por meristemas para la multiplicación *in vitro*.

a) Propagación por semilla o propagación sexual. Este tipo de propagación permite la combinación de genes que conducen a la formación de nuevos individuos, originando plantas de características diferentes a los padres facilitando la supervivencia de la especie cuando las condiciones del medio ambiente son desfavorables. Las plantas obtenidas por semilla tienen un sistema de raíces más desarrollado y vigoroso que las obtenidas por métodos vegetativos (CORPOICA, 2002).

b) Propagación vegetativa o propagación asexual. Consiste en sembrar trozos de tejidos vegetales tomados de plantas madre. Esta propagación se caracteriza porque las plantas propagadas son idénticas a la planta madre. Con este sistema se propaga cualquier material de lulo, tanto de variedades como de híbridos, pero se debe emplear especialmente en estos últimos. La propagación asexual puede hacerse por diferentes formas entre ellas por: chupones, estacas, injertos y por medio de propagación *in vitro* (CORPOICA, 2002).

Una de las metodologías de propagación in vitro mejor desarrolladas para la propagación de plantas es la micropropagación, siendo esta metodología la base de la presente investigación, este tema se presenta en el siguiente ítem:

2.6 MICROPROPAGACIÓN

Consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, de tejidos o células cultivadas asépticamente en un tubo de ensayo o en otro recipiente, donde se puedan controlar estrictamente las condiciones ambientales y la nutrición (Hartmann y Kester, 1995). Los fragmentos (explantes) pueden provenir de una gran variedad de tejidos vegetales, entre ellos: tallos, hojas, raíces, peciolo, hipocotilo, cotiledones, embriones o meristemas. El explante se cultiva a menudo en un medio nutritivo solidificado en agar, a partir de este proceso se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. El explante más usado para los procesos de propagación *in vitro* son las yemas vegetativas de las plantas (Castillo, 2004).

Según Poehlman y Allen (2003), los componentes del medio nutritivo son de gran importancia para lograr resultados satisfactorios en el cultivo de tejidos vegetales y contiene comúnmente sales inorgánicas, azúcar como fuente de carbono y vitaminas para mantener un ritmo de crecimiento rápido. La formulación óptima del medio nutritivo varía con la especie, el genotipo dentro de la especie, y el origen y la edad del tejido cultivado. Así mismo, el estado físico preferido del medio de cultivo, sea un medio líquido o un gel de agar sólido, puede variar con la especie y el ambiente del cultivo. Los refinamientos de los componentes del medio y de las condiciones del cultivo han hecho posible cultivar con buenos resultados tejidos vegetales y regenerar plantas a partir de un número cada vez mayor de especies cultivadas.

A continuación se presenta una tabla con la formulación de seis medios de cultivo evaluados para micropropagar lulo (cuadro 1).

Cuadro . Medios de Micropropagación evaluados en lulo

Compuestos		MEDIOS EVALUADOS					
		CI	CEFA	H	AT	½ MS	A
Sales MS (mg/L)		MS	MS	MS	MS	½ MS	MS
MICROS	MACROS						
CoCl ₂ . 6H ₂ O 0.025	CaCl ₂ 332.02						
CuSO ₄ . 5 H ₂ O 0.025	KH ₂ PO 4170						
FeNa EDTA 36.70	KNO ₃ 1900						
H ₃ BO ₃ 6.20	MgSO ₄ 180.54						
KI 0.83	NH ₄ NO ₃ 1650						
MnSO ₄ . 2H ₂ O 16.90							
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O 0.25							
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O 8.6							
Glycina (mg/L)		2	-	2	-	-	-
Tiamina HCL (mg/L)		1	0.4	1	10	1	0.5
myo-Inositol (mg/L)		100	100	100	100	100	-
Pantotenato de calcio (mg/L)		-	-	-	-	-	2.5
Pyridoxina HCL (mg/L)		0.5	-	0.5	1	-	1
Acido Nicotínico (mg/L)		0.5	-	0.5	1	-	5
Azúcar (g/L)		30	30	30	30	20	30
Agar (g/L)		6	-	7	8	4.5	-
Gel Rite (g/L)		-	2	-	-	-	3.5
Ph		5.7	5.7	5.7	6.2	5.7	5.9
ANA (mg/L)		-	-	0.02	0.1	0.02	-
BAP (mg/L)		-	0.5	0.02	1	0.04	-
GA ₃ (mg/L)		-	-	-	-	0.05	-

Sales MS (Anexo a)

CI: CORPOICA
CEFA: Centro Frutícola Andino
H: Hendrix

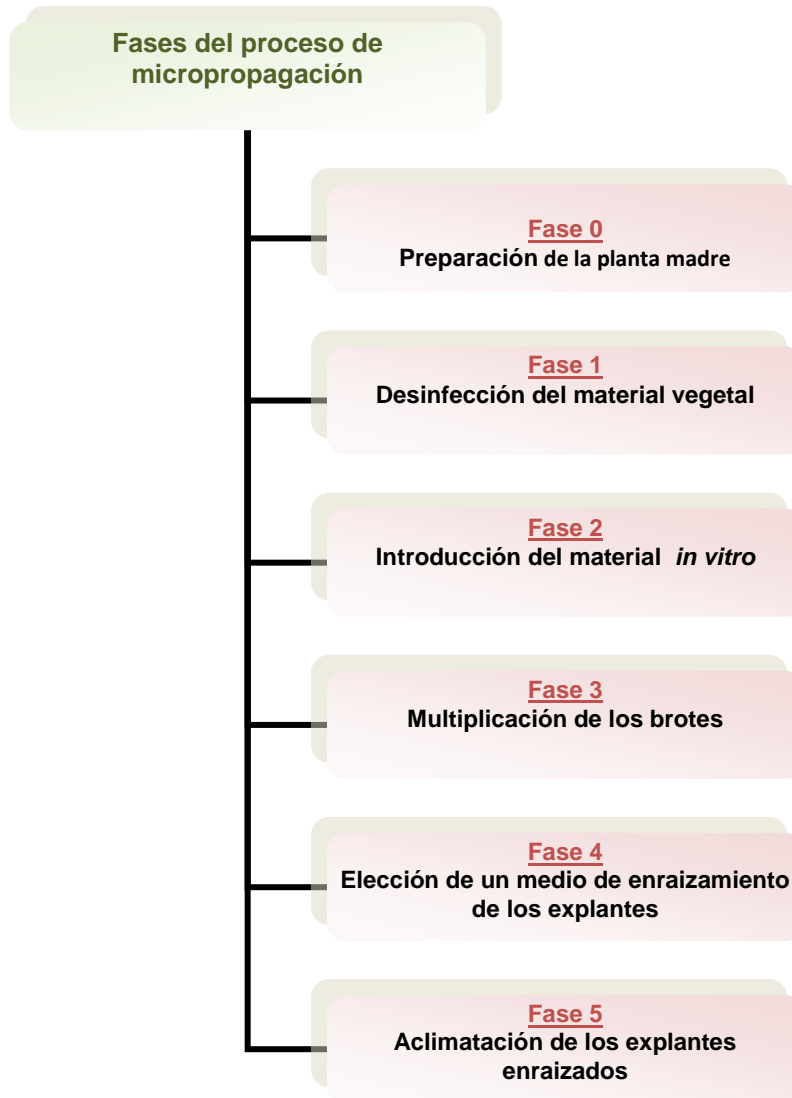
AT: Atkinson
½ MS: medio 4E modificado
A: Hussey y Stacey

Fuente: Segovia, 2002

2.6.1 Fases del proceso de micropropagación. Para desarrollar un eficiente método de micropropagación es necesario optimizar cada una de las cinco fases o

estadios. Las fases 1 a 4 definidas inicialmente por Murashige (1974), son las que transcurren propiamente *in vitro* mientras que las fases 0 y 5 se desarrollan en el invernadero. A continuación se describen las 5 fases para la micropropagación (figura 1).

Figura . Fases del proceso de micropropagación



Fuente: Castillo, 2004

Fase 0: Preparación de la planta madre. Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantes con un nivel nutricional y un

grado de desarrollo adecuado. Para obtener estos explantes es recomendable mantener las plantas madre en un invernadero bajo condiciones controladas. En ese ambiente se cultiva la planta en condiciones sanitarias óptimas y con un control de nutrición y riego adecuados para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades (Castillo, 2004).

Fase 1: Desinfección del material vegetal. Una vez elegida la planta madre, se extraen los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes, estos pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, etc. Antes de extraerlos se hace una desinfección de los fragmentos de planta madre para eliminar los contaminantes externos. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia, para lo cual se recomienda trabajar en cabinas de flujo laminar. Estos explantes se desinfectan con hipoclorito de sodio (agua clorada comercial), puro o diluido durante un período de 5 a 15 minutos, seguido por 3 a 4 enjuagues en agua esterilizada (Castillo, 2004).

Fase 2: Introducción del material *in vitro*. Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas se colocan en medio de cultivo estéril. En un período entre 7 y 15 días, se inicia el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, comenzando el ciclo de cultivo *in vitro* (Castillo, 2004).

Fase 3: Multiplicación de los brotes. Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la Fase 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o división de las plantas. El número de plantas que se obtiene dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo. El número de plantas que se obtiene por vía micropropagación permite alcanzar incrementos exponenciales, considerando que todos los factores que afectan el crecimiento hayan sido optimizados (Castillo, 2004).

Fase 4: Elección de un medio de enraizamiento de los explantes. Para enraizar los explantes se utilizan principalmente plantines individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que

solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea (Castillo, 2004).

Fase 5: Aclimatación de los explantes enraizados. Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso dependen de la aclimatación. Por lo tanto, establecer una plántula sana en el suelo con mínima mortalidad, es tan importante en la propagación por cultivos de tejidos, como obtener una alta frecuencia de regeneración de plántulas. Las especies difieren en cuanto a su capacidad para adaptarse a un nuevo ambiente, debido a que en esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de las mismas a vivir en condiciones naturales, es en este período que deben cambiar del estado heterótrofo al estado autótrofo, en el que la plántula sintetiza sus propios requerimientos de alimento orgánico (Poehlman y Allen, 2003).

En el momento en que se extraen los explantes o plantines enraizados de los frascos, están poco adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantes han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas (estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida de agua en la planta) que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa, y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explante, además de lo pequeño del sistema radicular formado en cultivo para mantener la planta en el suelo (Castillo, 2004). La aclimatación es un factor importante en la posterior supervivencia de la planta, ya que es una etapa crítica dentro del proceso, en la que se produce la mayor pérdida. En ella se debe comenzar reduciendo gradualmente la humedad relativa, para permitir con esto además del cierre estomático, una mejor formación de cutícula y disminuir la pérdida de agua. Por otra parte, para tener mejores resultados en el establecimiento *in vivo* es necesario el desarrollo radicular *in vitro* (Pierik, 1990).

2.6.2 Problemas asociados al cultivo *in vitro*. Cada uno de los pasos necesarios en el proceso de micropropagación tiene sus problemas específicos y uno de los principales problemas en el cultivo *in vitro* es la contaminación de los explantes.

a) Contaminación microbiana en el cultivo *in vitro* de plantas. La contaminación más que matar a los explantes directamente invade el cultivo haciendo que el explante no sea apto para su micropropagación (Cassells, 1991). Por esta razón, el éxito de los sistemas de propagación de plantas por

biotecnología depende en gran medida del control y prevención de la contaminación microbiana. Factores tan disímiles como el diseño arquitectónico de los locales de trabajo, la procedencia y edad del explante inicial, la higiene ambiental o la habilidad y preparación técnica de los operarios, entre otros, pueden favorecer o controlar la incidencia de contaminantes microbianos (Alvarado, 1998).

Como contaminantes frecuentes en el cultivo *in vitro* se menciona a los hongos filamentosos, las bacterias y las levaduras. Muchos no son conocidos por provocar daños a las plantas en campo y sin embargo se convierten en patógenos *in vitro*. Los microorganismos provocan pérdidas cuantiosas de material vegetal en los procesos productivos de la investigación. En las zonas tropicales, si no se tiene en cuenta, este problema puede alcanzar proporciones incalculables porque las condiciones climáticas favorecen el desarrollo y multiplicación de los microorganismos. Su efecto negativo sobre las vitroplantas puede ser considerable si se tiene en cuenta que compiten con ellas por los nutrientes del medio y les provocan daños directos e indirectos por la colonización de sus tejidos o la expulsión al medio de cultivo de metabolitos tóxicos. De esta forma pueden reducir los coeficientes de multiplicación, inhibir el enraizamiento y ocasionar la muerte de las plantas (Cassells, 1991).

b) Contaminantes microbianos en el laboratorio. Los microorganismos que se introducen al laboratorio son generalmente habitantes del suelo que se encuentran en el ambiente; saprofitos o patógenos de las plantas, así como habitantes de la microbiota normal del cuerpo humano que se relacionan con procedimientos inadecuados en el laboratorio, condiciones higiénico sanitarias deficientes o incumplimientos en la disciplina tecnológica. Ciertas bacterias entran al cultivo de tejidos con los explantes iniciales pero otras son claramente introducidas en el laboratorio (Alvarado, 1998).

c) Principales fuentes de contaminación. Los microorganismos pueden entrar en el proceso productivo, principalmente, por ineficiente desinfección de los explantes primarios utilizados en la fase de establecimiento, por inadecuada manipulación del material vegetal, deficientes técnicas de asepsia, incompleta esterilización del medio de cultivo, por fallos en el funcionamiento de las cabinas de flujo laminar, a través del ambiente de los locales. Además pueden diseminarse en las habitaciones por ácaros, trips y hormigas (Alvarado, 1998).

d) Oxidación. Durante el cultivo *in vitro* el explante sufre siempre en mayor o menor medida situaciones de estrés, ocasionadas por daños mecánicos o por las condiciones del cultivo *in vitro* (como la composición del medio). Estas situaciones

estimulan el metabolismo de los compuestos fenolicos. La síntesis de fenoles va a producir una serie de reacciones de hipersensibilidad, tales como la exudación al medio del contenido de las células deterioradas. De igual forma, las células vecinas de las que inicialmente fueron lesionadas se ven afectadas, incluso aunque esas células no parezcan estarlo, llevando finalmente a una muerte prematura (Debergh y Read, 1991).

2.2 VIVEROS

Los viveros, son lugares dedicados a la producción, multiplicación o micropropagación de plantas provenientes de semillas, material vegetativo y/o cultivos *in vitro*, seleccionados de acuerdo con la calidad y vigor, para asegurar su establecimiento en el sitio definitivo (Vázquez, 1997).

Los viveros pueden estar destinados a:

- La producción de plantas ornamentales (matas, arbustos, árboles).
- Producción de árboles frutales.
- Obtener plántulas destinadas a las plantaciones forestales protectoras o productivas.
- Producción de material por micropropagación.

2.2.1. Tipos de viveros. Tradicionalmente se han considerado dos tipos por su duración y ritmo de producción:

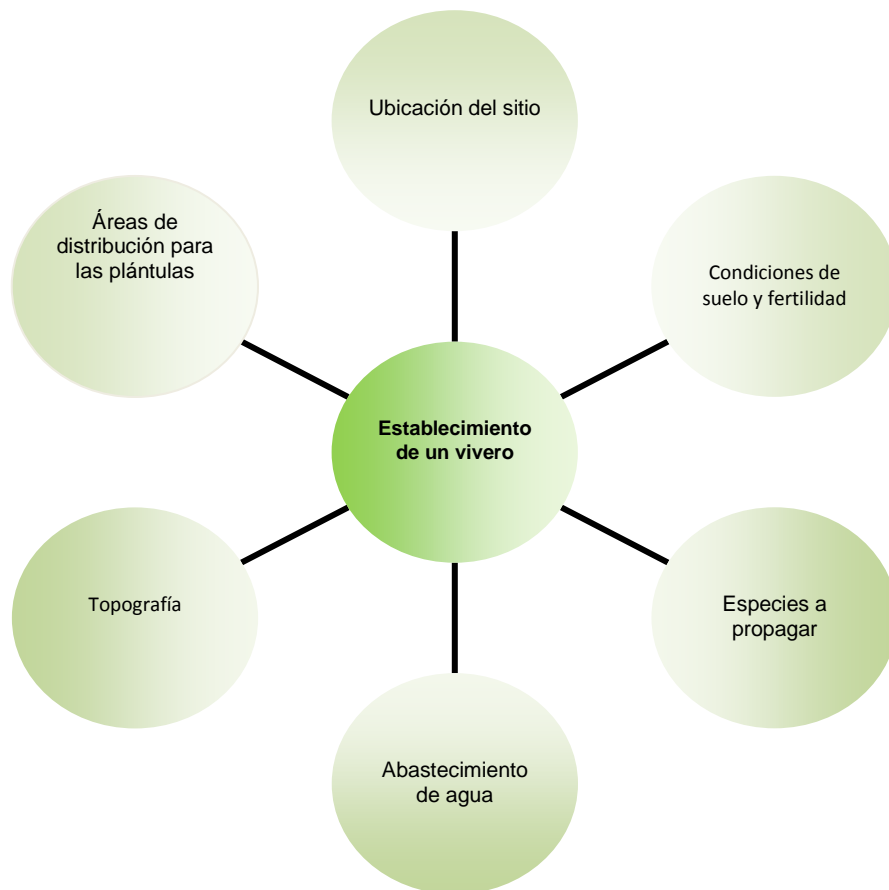
a. Viveros temporales o transitorios. Se utilizan por algunos años o meses y solamente para producir y abastecer las plántulas necesarias que se utilizan en un proyecto productivo determinado, se construyen en sitios donde haya fácil acceso. Una vez ejecutado el programa, se abandonan. Una de las ventajas que posee es, que el material se producirá en condiciones ambientales similares al área de plantación, reduciendo los peligros y pérdidas por adaptación, transporte y los mayores gastos que representa su movilización (Vásquez, 2000).

b. Viveros permanentes. Con ellos se pretende producir plantas en periodos con vistas a la producción a medio y largo plazo (más de cinco años). Requieren una

mayor inversión inicial para el correcto establecimiento de las infraestructuras ya que suelen contar con un equipamiento más complejo (bodegas, bombas de agua, sistemas de riego) son más frecuentes en grandes explotaciones en las que se producen necesitan una producción anual homogénea (Satín, 2005).

2.2.2 Criterios para el establecimiento de un vivero. Cualquiera que sea el sitio del vivero, el objetivo es el mismo: facilitar las labores en el vivero para obtener una alta calidad de plantas y para lograr este objetivo se debe tener en cuenta (figura 2):

Figura . Criterios para establecer un vivero



Fuente: Vázquez, 1997

Ubicación del sitio adecuado. El vivero se debe ubicar cerca a una carretera, a fin de facilitar el acceso del personal, fertilizantes, substratos, transporte de plantas, supervisión y visitas. Así mismo un vivero debe estar cerca a un centro

poblado, a fin de obtener mano de obra, evitar la construcción de alojamiento, asegurar el abastecimiento de alimentos y otros (Vázquez, 1997).

Área de distribución de los arbolitos y/o plántulas. El lugar deberá ser de fácil acceso, con buenas vías de comunicación, preferencialmente central y cercano a los sitios de distribución y demanda del material (Vázquez, 1997).

Condiciones del suelo y fertilidad. Un buen suelo produce rendimientos superiores. Normalmente las condiciones físicas son más importantes que las características químicas; un tipo o textura de suelo liviano (arenoso), profundo, mínimo 30-40 cm., sobre subsuelo permeable. Los suelos de texturas arcillosas carecen de porosidad y permeabilidad, son difíciles de trabajar y las plantas encuentran dificultades para desarrollar el sistema radicular, estos suelos se agrietan y desecan fácilmente durante el verano y en invierno se inundan dificultando la extracción de nutrientes; aunque estos suelos se pueden mejorar con la adición de cal, yeso, arena, carbón y materia orgánica (Vázquez, 1997).

Se deben evitar también suelos pedregosos y de poco espesor, sobre subsuelos impermeables; deben estar libres de cementaciones como “hard pan” o “clay pan” y de todo tipo de capas endurecidas (se consideran aptos los subsuelos arcillo arenosos, francos, franco limosos o franco arcillosos). La fertilidad natural es de menor importancia porque puede ser mejorada con abonos o fertilizantes cuya dosis depende del resultado del análisis químico de laboratorio (Vázquez, 1997).

Los suelos deben ser neutros o ligeramente ácidos en ningún caso alcalinos, con pH entre 5.5 - 7.0, para especies de hoja ancha, el pH no debe exceder de 4.5-6.0 ya que esta acidez favorece el control de enfermedades fungosas e inhibe el crecimiento de las plántulas (Vázquez, 1997).

Abastecimiento de agua. El objetivo del riego es mantener en la capa superficial suficiente humedad para que las plántulas crezcan lo indispensable. El agua en el vivero es un elemento primordial, y debe estar situada de tal manera que pueda obtenerse fácil y económicamente durante todo el año, aún en el verano, cuando las necesidades del agua son más críticas. Si esto no es posible deben existir lugares donde se pueda almacenar y distribuir.

Las cantidades de agua necesaria dependen de:

- Área o superficie del vivero.

- Estructura y textura del suelo.
- Exigencias de las especies.
- De la intensidad y frecuencia de las lluvias.
- El método de riego.

La calidad del agua de riego es tan importante como la cantidad. Se realiza un análisis químico que permita conocer la calidad y así evitar que se transmitan características indeseables a los suelos (aguas duras).

Topografía. El terreno ideal para un vivero debe ser de relieve plano y limpio de piedras, con buen drenaje. Si el suelo es franco o contiene arcilla, es preferible una pequeña pendiente entre 0.5 - 2%, con el fin de facilitar la evacuación del exceso de agua; en terrenos con pendientes mayores al 5% que ofrecen peligro de erosión es recomendable construir terrazas o bancales (aunque se necesita mucha mano de obra), deben desecharse los sitios encharcables o de mal drenaje (Vázquez, 1997).

Especies a propagar. El clima de la zona debe coincidir lo más estrechamente posible con las exigencias de la(s) especie(s) a propagar. Se ha observado que se encuentran pocas dificultades en la producción de plántulas, si el vivero se sitúa en un lugar que satisfaga la mayoría de las condiciones climatológicas necesarias para desarrollar en forma óptima la especie o las especies a propagar (Vásquez, 2000).

Algunas experiencias han mostrado que la ubicación del vivero a una altura un poco menor del área de siembra es conveniente, ya que la temperatura más cálida acelera el crecimiento de muchas especies y el material es más vigoroso y tiende a ser menos susceptible a las enfermedades (Vásquez, 2000).

Antes de definir el sitio donde se establecerá el vivero será necesario estudiar cada uno de los puntos enunciados, es evidente la dificultad en encontrar sitios que reúnan todas las condiciones anteriormente señaladas. Pero siempre hay que seleccionar de la mejor forma posible la calidad del sitio donde se va a ubicar el vivero mediante el criterio y la buena decisión técnica (Vásquez, 2000).

3. METODOLOGÍA

3.1 LOCALIZACIÓN

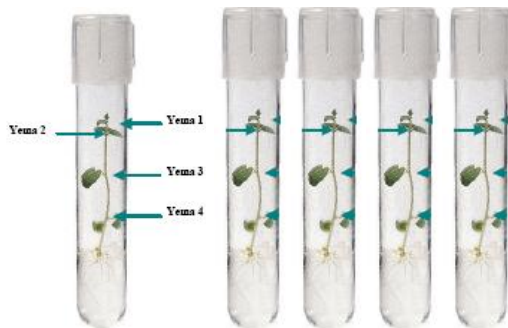
Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología e invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, ubicada en la vereda Las Guacas situada al nororiente de la ciudad de Popayán, departamento del Cauca. Encontrándose a una altitud entre 1750–1800 m.s.n.m, temperatura promedio anual de 19.8°C, humedad relativa promedio anual de 85%, precipitación anual entre 1900- 2000 mm (Vivas y Morales, 2005).

3.2 MATERIAL VEGETAL UTILIZADO

El material vegetal utilizado proviene del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, ubicado en el municipio de Palmira, departamento del Valle del Cauca (Colombia) entre los 3° 30' Norte y 76° 19' Oeste, a una altura de 965 m.s.n.m., precipitación anual promedio de 763 mm, humedad relativa de 78% y temperatura media anual de 24.5°C.

Los clones *in vitro* de lulo con espinas que proporcionó CIAT, fueron transportados desde Laboratorio de Cultivo de Tejidos e invernaderos de la Unidad de Biotecnología de este centro, hasta el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, el material venía conservado en tubos de ensayo de 15cm de largo, con un diámetro de 1,5 cm y una cobertura de plástico mas sello con espumilla (figura 3).

Figura . Clones proporcionados por CIAT para la multiplicación *in vitro* en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias



Fuente: Segovia, 2002.

Los materiales vegetales utilizados corresponden a los siguientes clones:

PL-19 *Solanum quitoense*. Clon de lulo proveniente de lulo la Selva, CORPOICA - Rionegro (Antioquia).

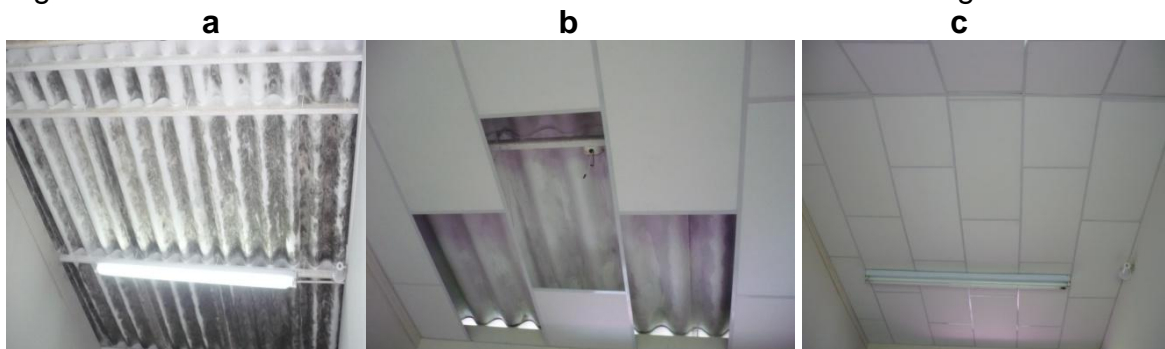
PH-E1 *Solanum quitoense*. Colectado en Siberia (Pescador), Cauca. Planta con espinas, se destaca por su buena carga o producción, frutos con buen aroma, color y sabor, tamaño de fruto grande y hábito de crecimiento erecto.

JY-E1 *Solanum quitoense*. Colectada en Alto de Pisimbala (Tierradentro), Cauca. Planta con espinas, el lote se encontraba en excelentes condiciones sanitarias, buen número de frutos por planta, tamaño de fruto muy grande y buena productividad. Con hábito de crecimiento semierecto.

3.3 ACTIVIDADES REALIZADAS

Se acondicionó el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, para mejorar las condiciones de trabajo en cultivos *in vitro*; una de las actividades realizadas fue el arreglo del techo, que presentaba problemas de humedad y hongos, para la cual se aplicó cal y posteriormente se colocó cielo raso con láminas base-yeso (figuras 4a, 4b y 4c).

Figura . Acondicionamiento del techo del Laboratorio de Biotecnología



Fuente: el presente trabajo, 2008.

3.3.1 Protocolo para multiplicación de yemas. El medio de cultivo utilizado fue el medio A sugerido por CIAT, su composición se puede observar en el cuadro 2,

este medio es ampliamente utilizado para el mantenimiento de bancos de germoplasma en papa *Solanum tuberosum* (Hussey y Stacey, 1981). El pH del medio se ajustó a 5.9, utilizando para ello un pHmetro (No 5, OAKLON, Acorn Series meter kit), para ajustarlo se aplicaron gotas de ácido clorhídrico 0.1 N y/o hidróxido de Potasio 0.1 N para disminuir o aumentar respectivamente el pH. Una vez ajustado, se procedió a esterilizarlo en autoclave horizontal (EASTERN) a 121 °C por 25 minutos. Posteriormente se llevó a cámara de flujo laminar (LABONCO, Purifier clean bench) donde se sirvió en cada uno de los recipientes utilizados para la siembra de los explantes. La cantidad de medio de cultivo que se sirvió para los recipientes fue: 10 ml de medio por tubo falcón (CORNING, recipientes de plástico con tapa, 11.5 cm de longitud, 2.8 cm de diámetro, capacidad de 50 ml), 15 ml para recipientes tipo mayonesa y 30 ml para los recipientes tipo hit y mermelada.

Cuadro . Medio de Micropropagación evaluado en lulo *S. quitoense*

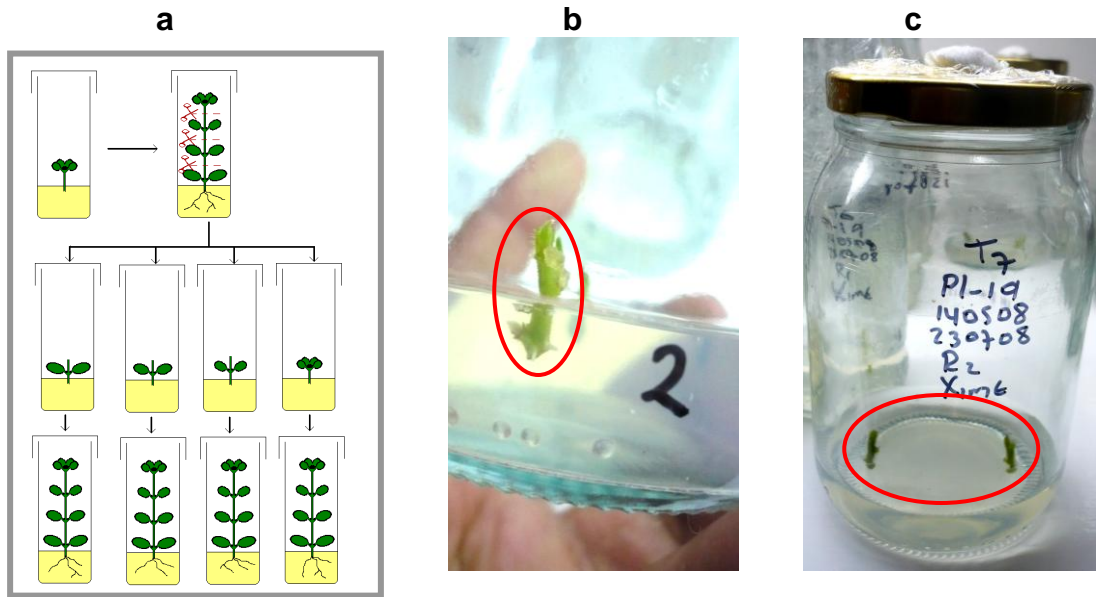
Componentes – Medio A	Concentración	1 Lt
Sales MS	4.3 g/L	4.3 g/L
Pantotenato de calcio	2.5 mg/L	1 ml
Tiamina	0.1 mg/L	5 ml
Piridoxina	0.5 mg/L	1 ml
Acido Nicotínico	0.5 mg/L	1 ml
Sacarosa	30 gr/L	30 g
pH	5.9	5.9
Phytigel	2.5 gr/L	2.5 gr/L

Fuente: Modificado de Hussey y Stacey, 1981.

Multiplicación de yemas. El medio utilizado fue igual tanto para el proceso de multiplicación como para el de enraizamiento hasta llegar a la aclimatación. Para el ensayo se utilizaron explantes provenientes de yemas axilares de plántulas previamente establecidas en cultivo *in vitro* en el laboratorio de cultivo de tejidos del CIAT.

Las plántulas recibidas se extrajeron de los recipientes empleando pinzas estériles, la raíz y las hojas de las plántulas fueron eliminadas utilizando bisturí No. 11 y empleando los mismos utensilios se realizaron cortes diagonales al tallo extrayendo explantes de 1,5 cm de longitud (figura 5a) que fueron sembrados en el medio de cultivo (figura 5b), a razón de dos explantes por recipiente y posteriormente, se siguió con el proceso de sellado y marcado de recipientes (figura 5c).

Figura . Multiplicación de explantes en el Laboratorio de biotecnología



Fuente: Muñoz, 2007

Fuente: el presente trabajo, 2009

El medio de cultivo se preparó dentro del laboratorio de Biotecnología, se trabajó en el cuarto de siembra para cultivos *in vitro* y se adecuó un estante metálico donde fueron incubados los recipientes utilizados y se mantuvieron a una temperatura promedio de 19 y 24°C. El fotoperiodo fue de 60 días, la intensidad luminosa estuvo entre 500 y 600 lux que fue suministrada por tubos fluorescentes de 36w.

Descripción de tratamientos. Para el desarrollo del trabajo se consideró la aireación como un factor importante en la multiplicación de yemas de lulo, por esta razón se decidió probar la efectividad del uso de espumilla en la tapa, comparada con tratamientos en los que se sellaron herméticamente con vinipel, además se evaluaron 4 tipos de recipientes de acuerdo a la disponibilidad en la Universidad (cuadro 3 y figura 6).

Cuadro . Tratamientos evaluados en la multiplicación de yemas

Tratamiento	Tipo de recipiente	Capacidad	Característica a evaluar
T ₁	recipiente plástico falcón	50 ml	sello con vinipel
T ₂	recipiente plástico falcón	50 ml	tapa y espuma
T ₃	recipiente de vidrio	250 ml	sello con vinipel
T ₄	recipiente de vidrio	250 ml	tapa y espuma
T ₅	recipiente tipo hit	237 ml	tapa y espuma
T ₆	recipiente tipo hit	237 ml	sello con vinipel
T ₇	recipiente de vidrio	500 ml	tapa y espuma
T ₈	recipiente de vidrio	500 ml	sello con vinipel

Fuente: el presente trabajo, 2009

Figura . Tratamientos evaluados y tipos de sellado utilizados



Fuente: el presente trabajo, 2009

Evaluación de variables. Para este ensayo se utilizó un diseño completamente al azar, con tres réplicas por tratamiento y dos unidades experimentales por réplica. Las observaciones se realizaron cada ocho días durante 60 días y se evaluaron variables morfológicas cuantitativas como: altura de la plántula, número de hojas desarrolladas (completamente abiertas), número de entrenudos formados y número de raíces emitidas. Se realizó un análisis de varianza, para determinar el efecto de los tratamientos, en caso de existir efecto de éstos, se aplicó un test de separación de medias de Duncan.

Para el proceso de multiplicación de yemas se calculó el porcentaje de contaminación en cada uno de los clones evaluados, porcentaje relacionado con el

número de explantes sembrados y el número de explantes contaminados (Afanador, 2005).

$$\% \text{ Contaminación} = \frac{\text{explantes contaminados}}{\text{Explantes sembrados}} \times 100$$

Se realizaron dos réplicas en la etapa de trabajo de laboratorio, en la primera réplica se trabajó con dos clones: PL-19 y JY-E1, y en la segunda réplica se utilizaron tres clones: PL-19, JY-E1 y PH-E1.

Aclimatación de plántulas. El total de plantas micropropagadas mantenidas *in vitro* durante 60 días fueron llevadas al vivero con una temperatura entre 20 - 26 °C y 78% - 85% de humedad relativa. Inicialmente las plántulas que entraron a fase de aclimatación fueron colocadas en el cuarto oscuro del vivero, con el recipiente y su respectivo sello. En este cuarto permanecieron cinco días; los recipientes conservaron el sello que los cubría durante tres días, para el cuarto y quinto día se quitó el sello y las plántulas estuvieron expuestas al medio ambiente. Al sexto día, las plantas fueron extraídas de cada uno de los recipientes utilizados en el ensayo y lavadas cuidadosamente para eliminar los residuos de agar en la raíces, se utilizaron bandejas en las que se las dejaron sumergidas en agua destilada por aproximadamente 16 horas, este procedimiento se llevó a cabo gradualmente para disminuir el estrés que se causa en las vitroplantas al cambiarlas de ambiente.

El proceso gradual de adaptación al medio ambiente que se realizó para la aclimatación de las plántulas coincide con algunas técnicas sugeridas por Agramonte *et al*, (1998), quienes reportan que el manejo de las plantas debe realizarse mediante un proceso gradual y sin crear traumas si se quiere obtener plantas de calidad, capaces de mostrar un alto grado de homogeneidad en el campo. Adicionalmente, según Carrillo (2004) debe tenerse en cuenta los sustratos a utilizar en la fase de vivero, ya que tienen gran importancia en el desarrollo inicial del cultivo debido a que el sistema radicular se desarrolla en esta fase. Como la planta proviene de cultivos *in vitro* tienen una gran exigencia nutricional que no será suplida por el sustrato, pero este debe presentar características estructurales y químicas que faciliten el desarrollo de la plántula.

Los sustratos utilizados fueron escogidos de acuerdo a la información recolectada en las entrevistas realizadas a los productores en las zonas de Santa Rosa (Popayán), Urubamba (Timbio) y Balboa Cc. Por tal razón, las plántulas fueron trasplantadas a dos tipos de sustratos: el primer sustrato que se utilizó fue la

mezcla de arena y aserrín (figura 7a), en este sustrato permanecieron diez días y se utilizó para completar el desarrollo y endurecimiento de la raíz. Tortosa (1990), reporta que este tipo de sustratos tienen como función dar a la planta sostén mecánico y a la vez permitir que las raíces tomen aire y agua, aunque pueden o no intervenir en el complejo proceso de la nutrición vegetal, partiendo de esta última premisa se usó un segundo sustrato que consistió en la mezcla de tierra negra y abono (abonisa®), en relación 3:2 respectivamente (figura 7b), en este sustrato permanecieron diez días y se utilizó con el objetivo de brindar fortalecimiento nutricional a las plántulas teniendo en cuenta el trasplante definitivo a campo.

Figura . Sustratos utilizados para el trasplante de las vitroplantas

a) Mezcla de arena y aserrín



b) Mezcla tierra negra y abono



Fuente: el presente trabajo, 2009

Para el trasplante se utilizaron bolsas de polietileno (11 cm x 8 cm), que tenían perforaciones en su base para favorecer el drenaje. Se sembró una planta por bolsa, el sustrato utilizado correspondió a una mezcla de arena: aserrín (3:1,5) previamente esterilizado a 121°C.

Al final del periodo de aclimatación (25 días después del trasplante a los sustratos) se tomó el porcentaje de supervivencia para las plántulas de lulo micropropagadas, porcentaje que se refiere a la relación entre plántulas aclimatadas y plántulas que entran al proceso de aclimatación (Afanador, 2005).

$$\% \text{ sobrevivencia} = \frac{\text{No de plantas aclimatadas}}{\text{No de plántulas perdidas}} \times 100$$

3.3.2 Construcción de instalaciones mínimas necesarias para propagación de frutales. El diseño y posterior construcción de las instalaciones mínimas necesarias para la obtención de material de siembra, se realizó con el objeto de que sirva como trabajo demostrativo de fácil replicación en las parcelas de pequeños productores de lulo del departamento del Cauca. Para tal efecto, primero se consultó con la normatividad que tiene el Instituto Colombiano Agropecuario ICA acerca de la producción, distribución, comercialización, importación y movilización de material de propagación clonal de frutales trabajando para ello con base en la Resolución No 02407, del 22 de Octubre del 2002 (ICA, 2002).

Una vez localizado y seleccionado el sitio de construcción (figura 8a, 8b y 8c), se realizó el plano diseñado en AutoCad versión 2008 con las áreas que constituyen el vivero. Luego se inició con las actividades para la construcción del vivero. Para su construcción se utilizó madera de eucalipto, la cubierta del techo y paredes se hicieron con polietileno (calibre 7) y polisombra del 80%. Las áreas para el proceso de multiplicación de material de siembra quedaron determinadas de la siguiente manera: área de germinación o cuarto para aclimatación de plántulas, área para manipulación de plántulas que entran al vivero, área de crecimiento, área de plantas madres y también se adecuó al lado del vivero un área para preparación de sustratos para germinación y/o para almacigos.

Figura . Actividades para la construcción del vivero.

- a) Selección del sitio adecuado b) Orientación c) Preparación del terreno



Fuente: el presente trabajo, 2008.

3.3.3 Colecta y sistematización del conocimiento tradicional sobre la producción de material de siembra en lulo. Con el propósito de conocer la forma en que propagan y hacen la multiplicación del material de siembra de lulo se realizaron entrevistas informales a pequeños y medianos productores de lulo en las zonas de Santa Rosa, Timbio, El Tambo, Balboa y Argelia. Se plantearon preguntas de carácter general que tuvieron componentes de tipo físico y socioeconómico para luego dar lugar a la tecnología de producción (local) utilizada en el cultivo de lulo, haciendo énfasis en la obtención y multiplicación del material de siembra. El tipo de entrevista fue semiestructurado, lo que le permitió al productor hablar sobre las actividades que lleva a cabo en las parcelas de producción de lulo de una manera libre y explícita con el fin de obtener la mayor cantidad de detalles que el productor quisiera brindar (anexo B).

4. RESULTADOS

4.1 Protocolo para la multiplicación *in vitro* de lulo.

El CIAT cuenta con un protocolo eficiente para la multiplicación de yemas de lulo, este protocolo se ajustó con respecto a la composición del medio de cultivo, y se realizó teniendo en cuenta el suministro de sales MS y del gelificante. Para el primero se utilizaron sales MS premezcladas (SIGMA®) a una concentración de 4.3 gr/l y para el segundo se utilizó phytigel (SIGMA®) a una concentración de 2,5 gr/l.

Se realizaron dos réplicas: en la primera, se trabajo con dos clones, PL-19 y JY-E1, en donde se presentó una contaminación del 4.16 y del 37.5% respectivamente. Para la segunda réplica, se logró disminuir el porcentaje de contaminación con respecto a la primera, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro . Porcentaje de contaminación por réplica

Descripción	CLON PL-19	CLON JY-E1	CLON PH-E1
Primera réplica			
Explantos sembrados	48	48	
Explantos contaminados	2	18	
% Contaminación por clon	4.16 %	37.50 %	
% Contaminación x réplica	20.83 %		
Segunda réplica			
Explantos sembrados	48	48	48
Explantos contaminados	0	2	2
% Contaminación por clon	0 %	4.16 %	4.16 %
% Contaminación x réplica	2.77 %		

Fuente: el presente trabajo, 2009.

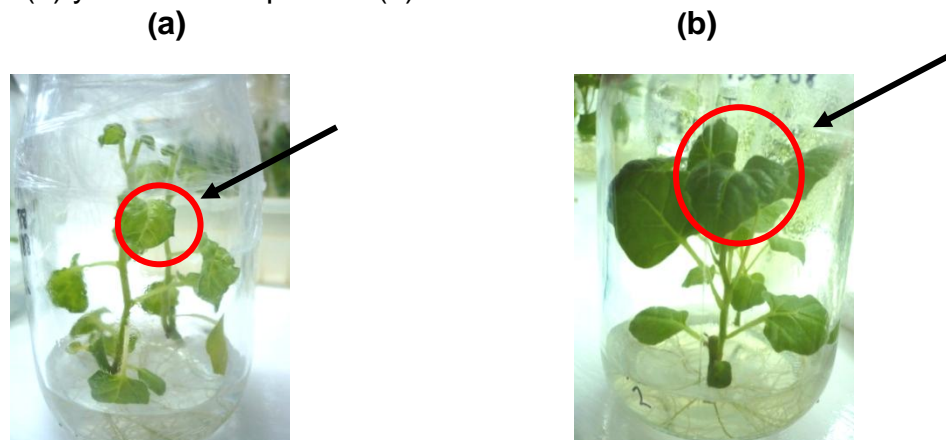
Estos resultados indican que la tasa de pérdida (asociada con la presencia de hongos en el cultivo *in vitro*.) difieren dependiendo del clon, aclarando que el clon PL-19, presenta menor porcentaje de contaminación posiblemente porque tuvo mayor tiempo de adaptación a las condiciones del laboratorio. Estas pérdidas por contaminación se observaron en la primera semana posterior a la siembra de los

explantos, para tal caso, Debergh y Zimmerman (1991) reportan que es en las primeras etapas cuando se alcanza el mayor porcentaje de contaminación, y esta situación se atribuye a las condiciones físicas del cultivo que conforman un ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos contaminantes.

Morfogénesis de las plántulas *in vitro*

En la segunda réplica, 28 días después de la siembra de los explantes, se observó morfogénesis completa en las plantas. Las plántulas de los tratamientos que tenían sello con vinipel (T_1 , T_3 , T_6 y T_8) mostraron un desarrollo débil, lámina foliar encrespada y hojas cloróticas (figura 9a). En contraste, las plantas de los tratamientos que tenían espuma en la tapa (T_2 , T_4 , T_5 y T_7) mostraron un desarrollo vigoroso, con lámina foliar ancha y hojas color verde intenso (figura 9b).

Figura . Morfogénesis de las plantas de acuerdo a los tratamientos utilizados, sello con vinipel (a) y sello con espuma (b)



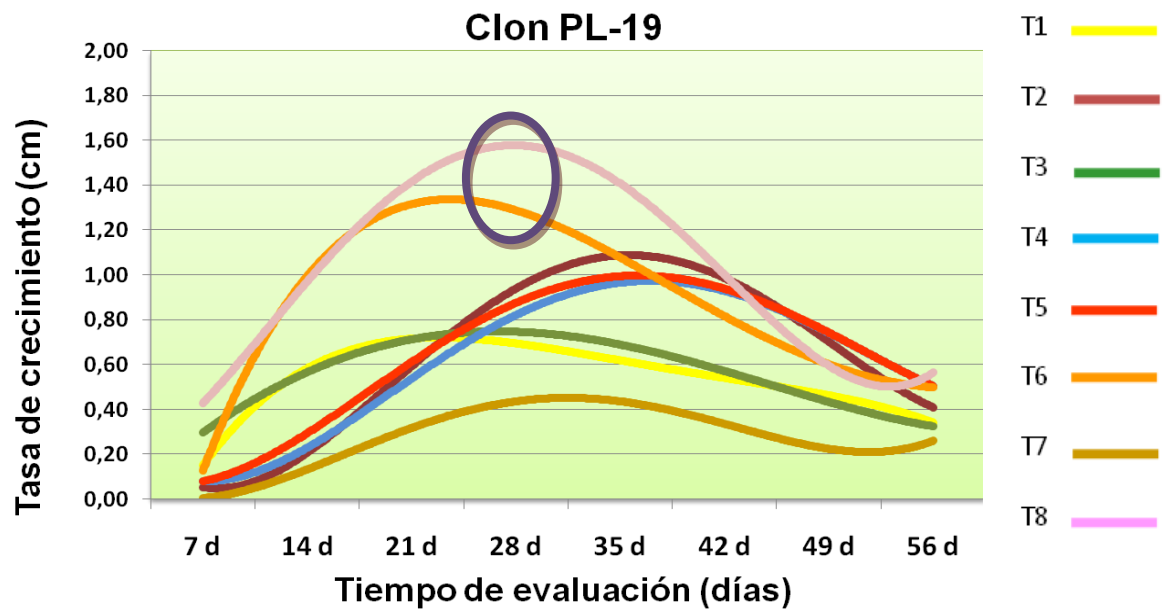
Fuente: el presente trabajo, 2008.

Se tomaron datos semanales, teniendo como base las variables altura de planta, número de hojas, número de nudos y número de raíces de los clones PL-19, JY-E1 y PH-E1. Los valores registrados fueron organizados y procesados para obtener promedios generales con los que se pudo construir las tasas de crecimiento por clon, los valores que se obtuvieron fueron de crecimiento promedio/semanal para las plántulas en cada uno de los tratamientos, con estos resultados se graficaron líneas de tendencia, donde se pudo observar que para la mayoría de tratamientos el punto máximo de crecimiento y desarrollo se encuentra entre los 28 y 35 días posteriores a la siembra, con un crecimiento promedio de 1.60 cm/ semanal, al corroborar este resultado con los datos organizados, en este

intervalo de tiempo cada plántula tuvo una altura promedio entre 5 y 6 cm, determinando así que para este período, ya se obtienen plantas completas y que puede coincidir con el paso de un tiempo prudente, durante el cual la planta ha tomado y asimilado los nutrientes que el medio le aporta para su desarrollo (figura 10a, 10b y 10c).

Figura . Tasas de crecimiento para los clones PL-19, JY-E1 y PH-E1.

a) Tasa de crecimiento del clon PL-19

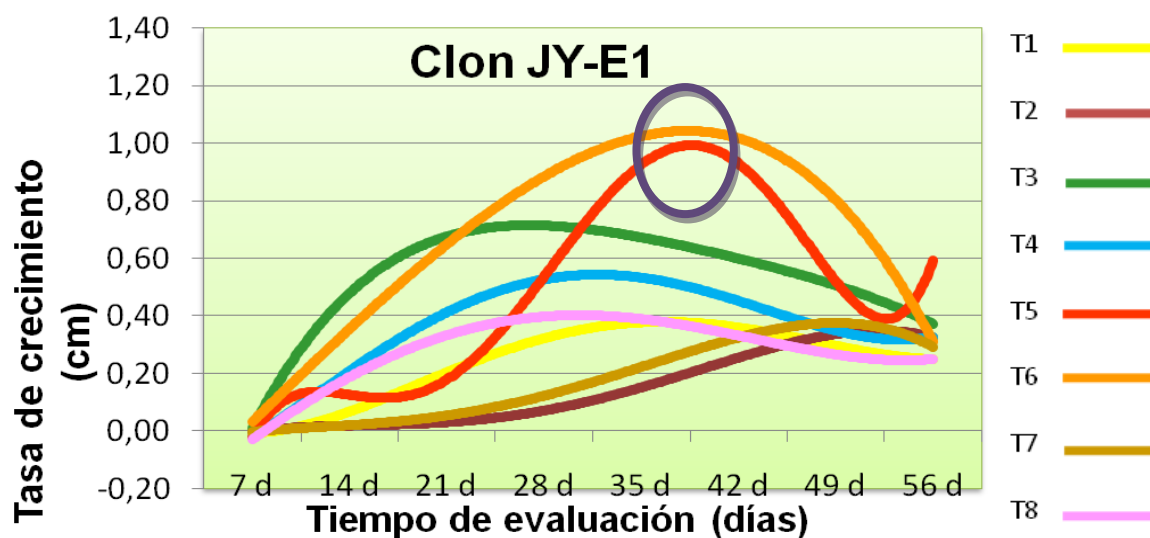


El ovalo indica los puntos máximos de crecimiento.

Fuente: el presente trabajo, 2009.

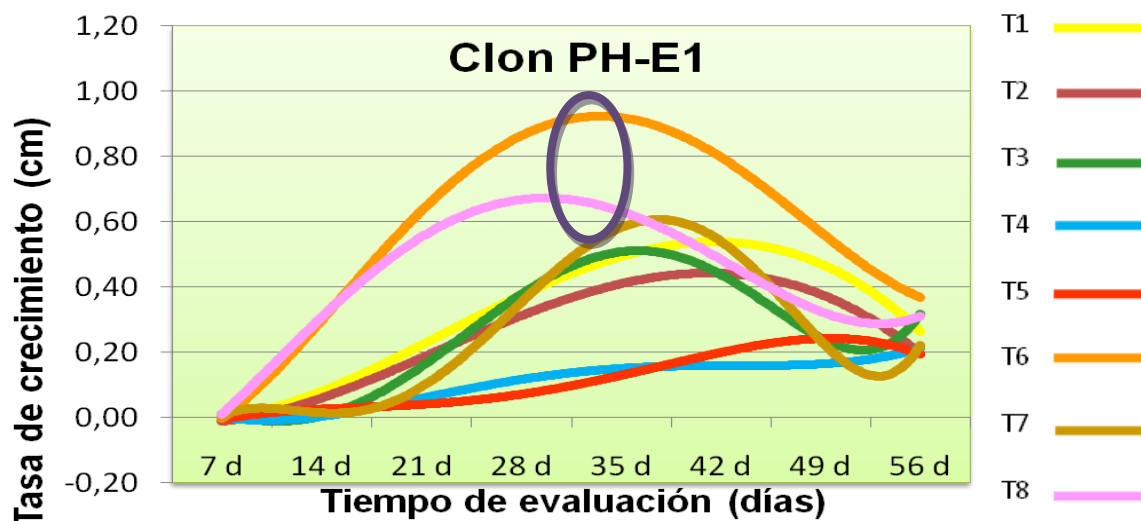
Como se observa en la figura 8a, para el clon PL-19 los tratamientos en los cuales se observa el punto máximo de crecimiento entre los 28 y 35 días posteriores a la siembra, son el T₆ y T₈ (sellados con vinipel), que corresponden respectivamente a recipientes tipo hit y mermelada con capacidades de 237 y 500 ml, recipientes que brindaron un espacio adecuado para el desarrollo de los explantes y por su tamaño no inhibieron el crecimiento de las plántulas.

b) Tasa de crecimiento del clon JY-E1



El ovalo indica los puntos máximos de crecimiento.
Fuente: el presente trabajo, 2009

c) Tasa de crecimiento del clon PH-E1



El ovalo indica los puntos máximos de crecimiento.
Fuente: el presente trabajo, 2009.

Las figuras 8b y 8c muestran que para los clones JY-E1 y PH-E1, se mantiene un comportamiento similar en el tratamiento T₆, los demás tratamientos varían de acuerdo al clon utilizado.

Análisis de varianza y prueba de Duncan para las variables evaluadas en los clones PL-19, JY-E1 y PH-E1

Según los resultados obtenidos por el análisis de varianza (anexo C), a los 35 días posteriores a la siembra de los explantes de lulo, se determinó que hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos y para establecer las diferencias en cada una de las variables evaluadas se realizó la prueba de promedios de Duncan (anexo D), con un grado de significancia del 95%, obteniéndose información que se relaciona en el cuadro 5.

Cuadro . Prueba de Duncan ($p < 0,05$) para las variables evaluadas en los tres clones de lulo bajo los ocho tratamientos.

Variables	CLONES					
	PI-19		PH-E1		JY-E1	
Altura (cm)	T ₈	5,86 ^a	T ₆	3,23 ^a	T ₃	3,35 ^a
	T ₆	5,15 ^b	T ₈	3,03 ^b	T ₄	2,71 ^b
Número de hojas	T ₈	7,50 ^a	T ₆	5,33 ^{a*}	T ₅	6,33 ^a
	T ₄	7,25 ^b	T ₈	5,16 ^a	T ₃	5,83 ^b
			T ₇	4,83 ^b	T ₄	5,50 ^b
			T ₃	4,50 ^b	T ₁	5,16 ^b
Número de nudos	T ₈	7,00 ^a	T ₈	4,66 ^a	T ₃	5,33 ^a
			T ₆	4,50 ^b	T ₅	4,50 ^b
					T ₈	4,50 ^b
					T ₄	4,33 ^c
Número de raíces	T ₂	8,50 ^a	T ₁	4,16 ^a	T ₃	4,83 ^a
			T ₈	3,83 ^b	T ₄	4,83 ^a
			T ₆	3,83 ^b	T ₁	3,83 ^b
			T ₃	3,66 ^b	T ₈	3,66 ^b

* Promedios con letras iguales, indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Nivel de significación $\alpha=0.05$

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Observación: características de sellado en los recipientes

- T₁ - Falcon (50 ml) más sello con vinipel
- T₂ - Falcon (50 ml) con tapa y espuma
- T₃ - recipiente de vidrio (250 ml) más sello con vinipel
- T₄ - recipiente de vidrio (250 ml) con tapa y espuma
- T₅ - recipiente tipo hit (237 ml) con tapa y espuma
- T₆ - recipiente tipo hit (237 ml) más sello con vinipel
- T₇ - recipiente de vidrio (500 ml) con tapa y espuma
- T₈ - recipiente de vidrio (500 ml) más sello con vinipel

En el cuadro 3 se puede observar que el clon PL-19 presenta un desarrollo fisiológico y anatómico, superior comparado con los clones PH-E1 y JY-E1, en las variables evaluadas (altura, No de hojas, No de nudos y No de raíces) se evidencia esa tendencia superior, siendo el doble con relación a los otros dos clones y puede suponerse que este comportamiento se debe a que el clon PL-19 tuvo un proceso de adaptación más largo a las condiciones del laboratorio de biotecnología. De otro lado, Roca y Mroginski (1991) reportan que es muy frecuente que en idénticas condiciones de medio y ambiente, la respuesta *in vitro* de un determinado explante difiera con el cultivar empleado, por lo tanto la respuesta de los explantes pueden variar notablemente con el estado de desarrollo y edad ontogénica de los mismos. Por esta razón, cada clon tiene una respuesta a las condiciones *in vitro*, el establecimiento del material vegetal no solo debe estar basado en las condiciones *in vitro* bajo la cual se vaya a trabajar, sino también en el genotipo del clon que se vaya a utilizar en el proceso de multiplicación. De acuerdo con Fal *et al* (2002) los factores genéticos determinan la sensibilidad del material vegetal a las condiciones ambientales, lo que se refleja en las respuestas de crecimiento y morfogénesis *in vitro*.

El análisis de varianza y el test de Duncan para la variable altura de planta para los clones PL-19 y PH-E1 indica que hubo diferencias significativas entre los tratamientos T₈ y T₆, mientras que para el clon JY-E1 los tratamientos que presentaron diferencia fueron T₃ y T₄.

Los resultados encontrados para la variable altura, pueden estar relacionados con la acción de las auxinas, hormonas que participan en diferentes procesos de desarrollo vegetal entre ellos: el alargamiento o elongación celular y la promoción de biosíntesis del etileno (Echevarría *et al*, 2001). Estas hormonas son

transportadas por medio de un mecanismo dependiente de energía, alejándose en forma basipetala, es decir, desde el punto apical de la planta hacia su base, de esta manera el flujo de auxinas reprime el desarrollo de brotes axilares laterales a lo largo del tallo, manteniendo así la dominancia apical (Raven *et al*, 1999), llegando a obtenerse plántulas de gran altura.

Para la variable número de hojas la prueba de Duncan revela que para el clon PL-19 existen diferencias significativas entre los tratamientos T₈ y T₄, para el clon PH-E1 hubo diferencias significativas entre los tratamientos T₆ con respecto a T₈, T₇ y T₃ mientras que para el clon JY-E1 los tratamientos que presentaron diferencia fueron T₅, T₃, T₄ y T₁.

Los resultados evidencian que los tratamientos que tenían sello con vinipel (T₈, T₆, T₃ y T₁) y que presentaron diferencia significativa para los tres clones, fueron tratamientos que mostraron mayor formación de hojas pero con poca expansión foliar, contrario a los tratamientos que tenían sello con espumilla (T₄, T₅, T₇) que también presentaron buena formación de hojas pero con mayor expansión foliar. Se resalta, que los explantes que fueron sembrados en recipientes que tenían sello con vinipel (sin ventilación), tenían en el medio de cultivo concentraciones de gases como etileno, CO₂, etc, con pocas posibilidades de circulación y/o intercambio de estos. Teniendo en cuenta principalmente los efectos del etileno, los resultados encontrados se pueden explicar por la acción inhibitoria que ejerce este gas, ya que su presencia permite la emergencia de las hojas pero inhibe su desarrollo controlando la expansión foliar debido a la inhibición del alargamiento celular, observaciones reportadas por Zacarías y Lafuente (2001).

Para la variable número de nudos se presentan diferencias significativas para el clon PL-19 solo entre el tratamiento T₈ y los demás, mientras que para el clon PH-E1 hubo diferencias significativas en los tratamientos T₈ y T₆, y con relación al clon JY-E1 los tratamientos que presentaron diferencia fueron T₃ con respecto a T₅, T₈ y T₄.

La presencia de una mayor o menor cantidad de nudos podría estar asociado con el tipo de explante utilizado. Hartmann *et al* (1997), reportan que usar tejidos provenientes de zonas de intensa división celular como son las yemas apicales o axilares, produce una organogénesis directa, manifestada en la formación de un nuevo brote y raíces a partir de la yema explantada. Estas yemas con una adecuada composición del medio de cultivo pueden ser inducidas a la brotación múltiple, aumentando así la tasa de multiplicación de la especie.

En cuanto al número de raíces, el ANOVA y el test de Duncan realizados demostraron que existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. En el clon PL-19 solo se obtuvieron diferencias entre el T₂ y los demás tratamientos, con relación al clon JY-E1 se presentaron diferencias entre T₃, T₄, T₁ y T₈, y comparado con el clon PH-E1 hubo diferencias significativas entre los tratamientos T₁, T₈, T₆ y T₃.

Para la variable número de raíces, se calculó la presencia o ausencia de raíces en los brotes, en la recolección semanal de datos se observó que en los ocho tratamientos evaluados se presentaron brotes con desarrollo de pequeñas raíces desde los 8 días posteriores a la siembra, proceso que puede estar relacionado con la capacidad que tienen las plantas en condiciones *in vitro* para la producción de raíces adventicias y esta capacidad parece estar relacionada con la revigorización (rejuvenecimiento) del material vegetal, planteamiento expresado por Hartmann *et al* (1997) quienes señalan que el incremento en la inducción de raíces *in vitro* está relacionado con la reversión a un estado juvenil logrado por el aumento en el número de subcultivos. Adicionalmente, el medio de cultivo utilizado por esta investigación es un medio que no está suplementado con auxinas, sin embargo hay rizogénesis en los tres clones, estos resultados pueden ser atribuidos aparentemente por la producción de auxinas endógenas en la planta. De acuerdo con Col, *et al* (1988) las partes aéreas, principalmente las hojas tienen una producción intensa de auxinas que pueden ser trasladadas a la base para estimular la rizogénesis.

En la presente investigación se utilizaron dos tipos de sellos en los recipientes (sello con vinipel y sellos con espumilla). Según la prueba de Duncan para cada una de las variables evaluadas existen diferencias significativas entre tratamientos. Las plántulas de los tratamientos que tenían sello con espuma presentaron un buen desarrollo fisiológico para siembra en campo (hojas con área foliar grande, tallos gruesos, buen desarrollo de nudos), mientras que en los tratamientos que tenían sello con vinipel las plántulas tuvieron hojas pequeñas, cloróticas y encrespadas con tallos delgados de gran distancia intermodal y poco desarrollo de nudos. Estos resultados reafirman la importancia del intercambio gaseoso (facilitado con el sello de espumilla en la tapa) para la obtención de plántulas de lulo vigorosas y apoyan la hipótesis de que el etileno puede afectar el desarrollo *in vitro* de estas plantas. Estas observaciones sugieren la importancia de profundizar en los efectos del etileno para poder realizar conclusiones más acertadas del efecto de este sobre el cultivo *in vitro* de lulo.

Según Segovia (2002), y acorde con los resultados del presente trabajo: todas las plantas vigorosas se obtuvieron con el uso de sello con espumilla en la tapa, al parecer este efecto positivo está directamente relacionado con el contenido de

etileno en el cultivo *in vitro*, contrario a lo encontrado en plantas sin aireación, tales como plantas elongadas, pocos nudos, gran distancia internodal y lamina foliar delgada, que son propias del efecto causado por el etileno. Al parecer este efecto nocivo para las plántulas desaparece si se favorece el intercambio gaseoso por medio del uso de sellos con espuma en la tapa obteniendo así plantas de lámina foliar ancha, menos altura y mayor número de nudos, con menor distancia intermodal. El etileno es producido por todo tipo de tejidos, incluyendo callos, suspensiones y brotes, a nivel fisiológico causa efectos que varían de acuerdo a la concentración del gas y pueden ser deseables como indeseables. Su efecto negativo sobre la expansión de la lámina foliar y la presencia de tallos elongados ha sido reportado en diferentes especies (Abeles, 1985, citado por Lentini *et al.* 1990), incluyendo frutales como papaya *Carica papaya* (Lai-ChuoChun *et al.*, 1998), sandía (Thomas *et al.*, 2000) y chirimoya *Annona squamosa* (Zobayed y Armstrong, 2002). En *Kalanchoe blotsfeldium* se presentaron menos nudos por planta cuando se cultivó en recipiente cerrados (Horn *et al.*, 1988).

Teniendo en cuenta el tipo de recipiente utilizado, se encontró que los mejores resultados se obtuvieron en aquellos que tenían capacidad de 237 ml (T₆), 250 ml (T₄ y T₃) y 500 ml (T₈), que corresponde respectivamente a recipientes: tipo hit que cuentan una altura de 15.5 cm; recipientes tipo mayonesa con una altura de 10.5 cm y recipientes tipo mermelada con altura de 13 cm, estos recipientes brindan buen espacio para que la plántula se desarrolle y alcance una altura ideal para la etapa de aclimatación en vivero, que debe ser igual o mayor de 5cm. Estos resultados coinciden con Pierik (1990), quien menciona que el tipo de recipiente para cultivo, la forma y tamaño, y el sistema de cierre, influyen en la morfogénesis de los explantes cultivados *in vitro*. Righetti *et al.* (1990), indican que los procesos de diferenciación y morfogénesis pueden afectarse al acumularse gases y otros compuestos orgánicos, dependiendo del tamaño y sellado de los recipientes de cultivos *in vitro*. De los tres recipientes para cultivo mencionados anteriormente se destaca la posibilidad de utilizar recipientes tipo hit, que pueden ser reciclados y permiten obtener plántulas de buena altura, característica ideal que ayuda superar la etapa de aclimatación y aumenta el porcentaje de sobrevivencia. Con respecto al recipiente de 500 ml (T₈), este es utilizado en investigaciones hechas por el Centro de Agricultura Tropical para propagación de lulo y otros frutales dando buenos resultados en todo el proceso de micropropagación.

Aclimatación de plántulas. El total de plantas micropropagadas mantenidas *in vitro* durante 60 días fueron llevadas al vivero a una temperatura entre 20 - 26 °C y 78 - 85% de humedad relativa.

Las plántulas permanecieron 25 días en el vivero considerando este tiempo como el final de la etapa de aclimatación, para lo cual se realizó una apreciación

cualitativa donde se observaron: plántulas vigorosas, con buen desarrollo de hojas, gran expansión foliar, tallo bien conformado y firme, adicionalmente a esta apreciación, se tuvo en cuenta la altura alcanzada por las plántulas y se relacionó con el trabajo de campo realizado, en donde las plántulas que los productores entrevistados tenían en almácigo presentaban una altura aproximada de 15 cm, altura tomada como referencia para las plántulas del trabajo de investigación. La altura alcanzada por las plántulas del presente trabajo al final de la etapa de aclimatación se encontró entre 14 – 16 cm, listas para el trasplante a campo. El porcentaje de sobrevivencia se evaluó a los 25 días después de llevadas las plántulas al área de germinación del vivero, obteniéndose los resultados que se relacionan en el cuadro 6.

Cuadro . Fase de aclimatación de plántulas para los tres clones evaluados

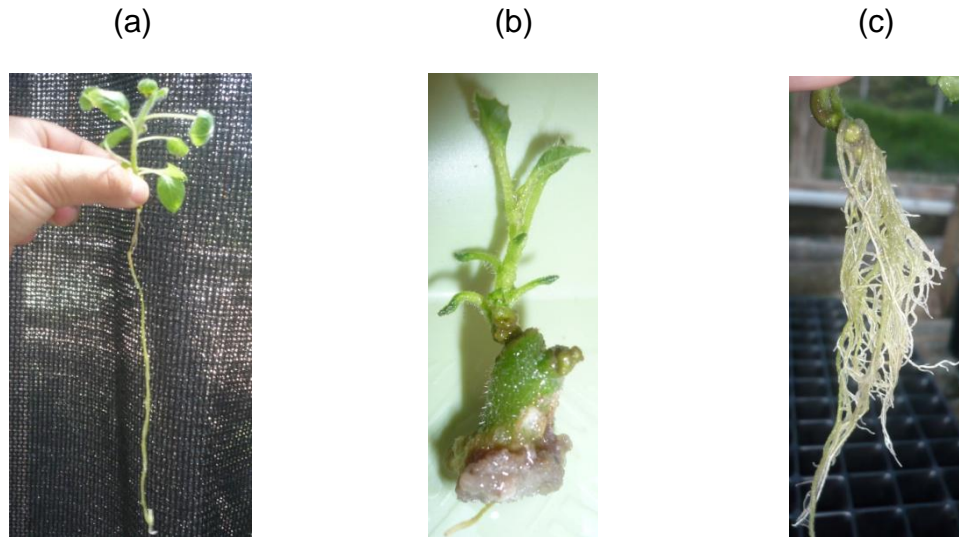
Descripción	CLON PL-19	CLON JY-E1	CLON PH-E1
Primera réplica			
Explantes sembrados	48	48	
Explantes contaminados	2	18	
Plántulas <i>in vitro</i> para aclimatar	46	30	
Plántulas perdidas en aclimatación	5	10	
Plántulas aclimatadas	41	20	
% Sobrevivencia por ciclo	85.41%	41.7%	
% sobrevivencia fase de vivero	89.13%	66.67%	
Segunda réplica			
Explantes sembrados	48	48	48
Explantes contaminados	2	0	2
Plántulas <i>in vitro</i> para aclimatar	46	48	46
Plántulas perdidas en aclimatación	7	2	3
Plántulas aclimatadas	39	46	43
% Sobrevivencia por ciclo	81.25%	95.83%	89.6%
% sobrevivencia fase de vivero	84.8 %	95.83 %	93.47 %

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Los resultados muestran que para la primera réplica el clon PL-19 tuvo un porcentaje de sobrevivencia mayor que el clon JY-E1, las pérdidas en aclimatación para el clon JY-E1 son el doble que para el clon PL-19. Estos resultados podrían haberse generado por la presencia de vitroplantas con las siguientes características: menores de 3.0 cm, con poco desarrollo radicular - menor número de raíces por plántula (Figura 11a), presencia de callo y oxidación radicular (Figura 11b), algunas plántulas no superaban la etapa de aclimatización y otras debían

permanecer un período más largo en esta etapa. Contrario a estos resultados, se encontraron plántulas que presentaron buena rizogénesis (Figura 11c).

Figura . Sistemas radiculares observados en plántulas que entraron a etapa de aclimatación.



Fuente: el presente trabajo, 2009.

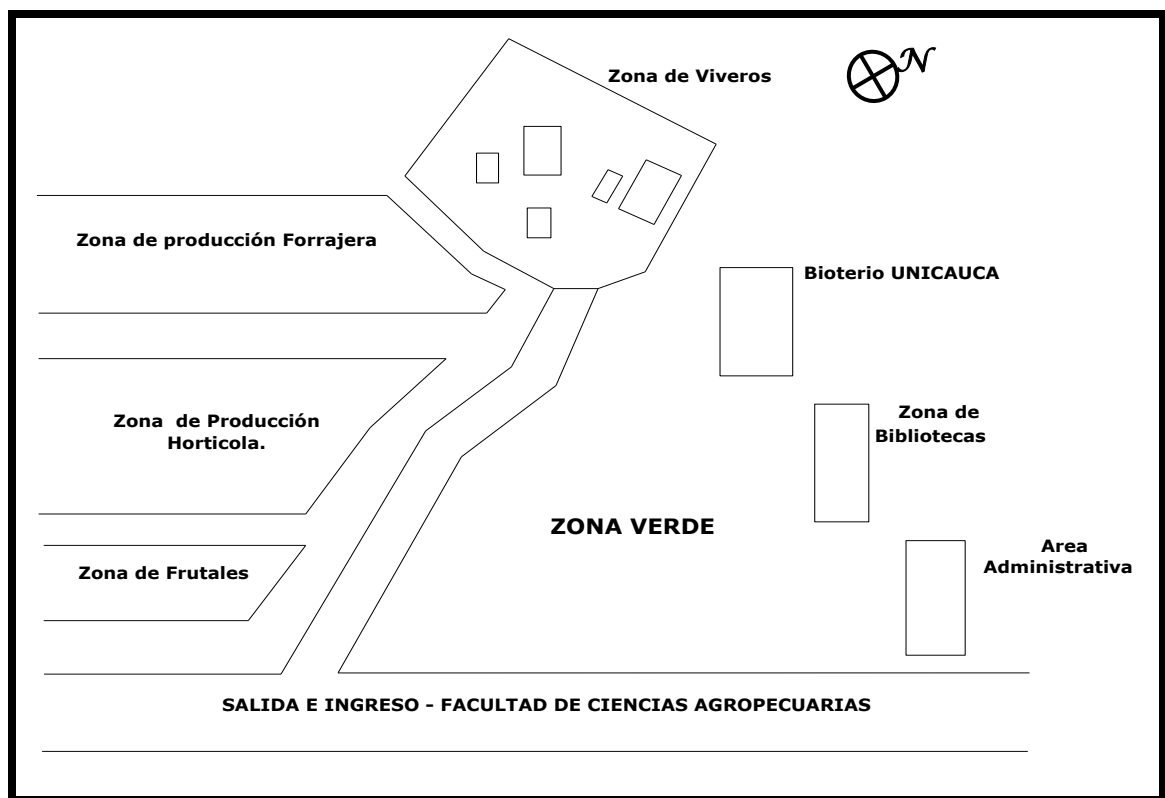
Para la segunda réplica el clon que mejor porcentaje de sobrevivencia tuvo fue el JY-E1, seguido del clon PH-E1, y opuesto a la primera réplica el clon PL-19 presentó menor porcentaje de sobrevivencia. Estos resultados también se pueden asociar a las características encontradas en la primera réplica (figura 11a, 11b y 11c).

Los resultados obtenidos nos indican que hay que intensificar el manejo de los explantes desde la fase de multiplicación para así lograr mayores porcentajes de plantas con alturas superiores a los 5 cm. Acorde con estos resultados, Pérez y Pastelón (2001) manifiestan que el tamaño de la vitroplanta al ser pasada al área del invernadero es directamente proporcional con el porcentaje de supervivencia de estas y con el tiempo de estancia en el invernadero, estas diferencias también fueron observadas en la fase de aclimatización de vitroplantas de *Solanum tuberosum* L por Jiménez (2000), así como por Torres (1999), en el cultivo de la Gerbera.

4.2 Construcción de instalaciones mínimas necesarias para propagación de frutales.

El vivero se encuentra localizado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias contiguo al vivero forestal Los Robles (figura 12). El área total del vivero es de 54 m² (9m largo x 6m de ancho).

Figura . Plano de localización e ingreso al vivero en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca



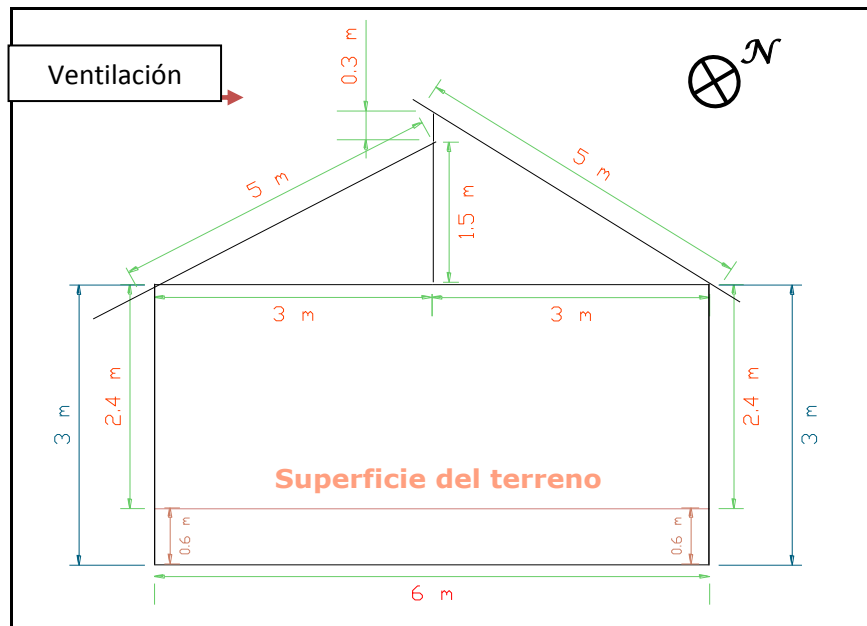
Fuente: el presente trabajo, 2009.

El techo del vivero está construido a dos aguas, con un área de ventilación entre ellas de 30 cm (Figura 13a y b).

Figura . Vista frontal del Vivero para propagación de frutales en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca



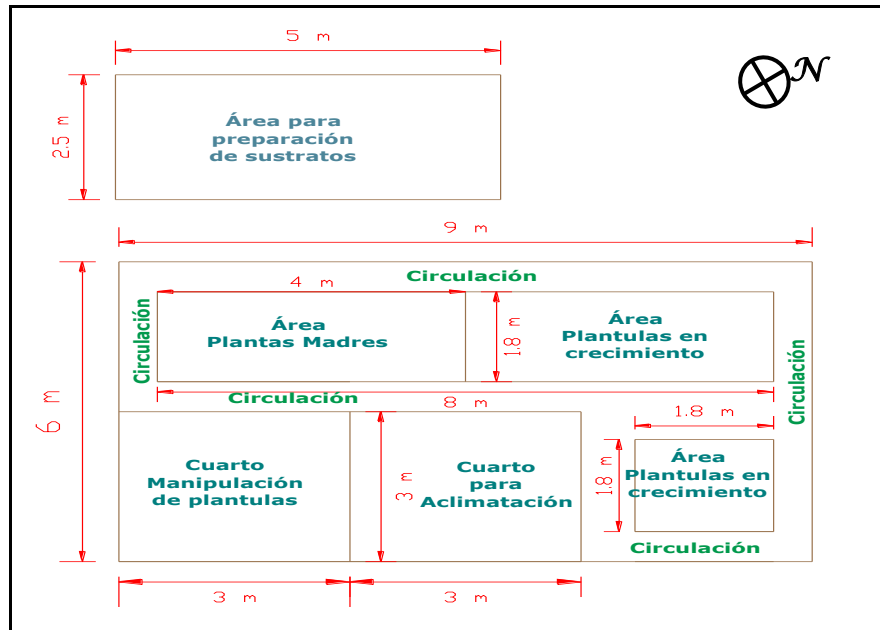
(b)



Fuente: el presente trabajo, 2009.

Las dimensiones para las áreas internas del vivero fueron (figura 14):

Figura . Distribución de áreas internas en el vivero



Fuente: el presente trabajo, 2009.

Área de germinación (cuarto para aclimatación): 3 m de ancho por 3 m de largo, este cuarto fue cerrado completamente con polisombra del 80% y cuenta con riego por nebulización (figuras 15a y b).

Área de manipulación de plántulas: 3 m de ancho por 3 m de largo, este cuarto fue cerrado lateralmente con plástico de polietileno, calibre 7 (figura 15 c).

Área de crecimiento: consta de dos camas construidas en guadua; una cama de 1.80 m de ancho x 4.0 m de largo y otra cama de 1.80 m de ancho x 1.80 m de largo, se cuenta con riego por microaspersión. En esta área las plántulas que pasan por el proceso de aclimatación van a completar su desarrollo hasta ser llevadas para la siembra en campo (figuras 15 e y f).

Área de plantas madres: cama construida en guadua de 1.80 m de ancho x 4.0 m de largo y cuenta con riego por goteo. Las plantas madres son sembradas en materas de 20 cm de alto por 18 cm de ancho (figura 15 d).

Área para preparación del sustrato: 2.5 m de ancho por 5 m de largo, con piso rustico en cemento de 5 cm de espesor (figura 15 g).

Las áreas de movilización guardan un espacio de 0.60 m.

Figura . Distribución de áreas en el Vivero para propagación de frutales

a. Cuarto de aclimatación



b. Interior cuarto de aclimatación



c. Cuarto para manipulación de plantas



d. Área plantas madres



e. Área plántulas en crecimiento



f. Área plántulas en crecimiento



g. Área para preparación de sustratos



Fuente: el presente trabajo, 2008.

4.3 Colecta y sistematización del conocimiento tradicional sobre la producción de material de siembra en lulo.

Se encontró que los productores entrevistados tienen un área destinada a la producción de lulo que oscila entre 0.5 – 2 hectáreas y en estas áreas tienen entre 300 y 2000 plantas de lulo con distancias de siembra entre 1,50 x 1, 20m y 3m x 2,5 m.

Con respecto a la producción de lulo se obtuvieron los siguientes resultados: el 30.7% de los productores entrevistados no ha recibido capacitación sobre el manejo del cultivo, el 69.3% restante ha recibido capacitación por medio de casas comerciales de agroquímicos que se encuentran en Popayán. Otros han recibido capacitación en Talleres organizados por los entes Municipales (UMATA - Unidad Municipal de Asistencia Técnica Agropecuaria) en sitios como La sierra, San francisco (Balboa), Argelia y Sotará. El 61.5% de los productores emplea mano de obra familiar, sobre todo cuando el número de plantas de lulo sembradas es menor a 1000 y el 38.5% contrata mano de obra para realizar las labores culturales cuando tienen entre 1000 y 2000 plantas en su parcela.

El tiempo durante el cual los productores han venido manejando el cultivo de lulo varía entre 1 – 20 años. De acuerdo a este rango de tiempo se encontró que el 53.8% tiene una experiencia entre 3 y 5 años en el manejo del cultivo y que el 46.2% cuenta con una experiencia de manejo entre 10 y 20 años.

Las variedades utilizadas son las mismas en todas las zonas, predomina la variedad Castilla; en Balboa y Argelia, los productores utilizan Castilla, “variedad denominada Solano”, en El tambo, Timbio y Santa rosa utilizan “Castilla” a la que denominan como “lulo con espinas – pulpa verde”.

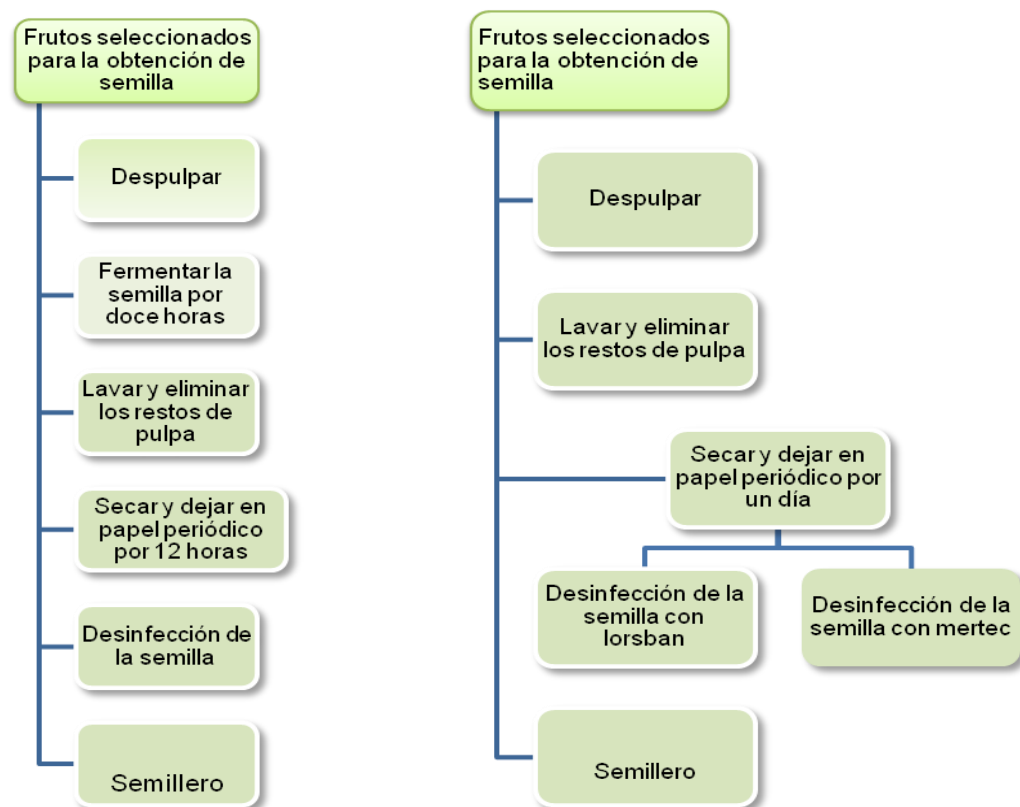
Para el material de siembra el 8.5% de los productores lo multiplican mensualmente (por lo general cuando lo venden a otros productores), el 16.5% lo hacen semestralmente, el 42%, lo realiza anualmente y el 16.5% determinan el tiempo de multiplicación según la necesidad que tengan en la parcela de producción y también de acuerdo a su capacidad económica.

En cuanto a la época de siembra, el 46.2% de los productores planifican la siembra de lulo en época verano “para que en invierno la “matica” este grande y soporte mejor el ataque de enfermedades”, el mismo porcentaje de productores buscan sembrar lulo en época de invierno “se siembra cuando el invierno no esta tan fuerte o ya va terminando, para que en verano sino se cuenta con buen riego, la planta pueda resistir mas” y el 7.6% restante utiliza el almanaque Bristol para planificar la siembra “cuando se va a sembrar por primera vez en un lote de la finca se busca que el tiempo sea de luna llena en cualquier mes del año – para que pueda fructificar la “plantica” -, ya para el siguiente lote se sembrara en abril o

mayo para que en noviembre - diciembre mes de lluvias, la planta este más desarrollada y resista mas a problemas fungosos”.

De otra parte y de manera generalizada el 100% de los productores entrevistados utiliza semilla para obtener material de siembra. El 7.7% opina que si se siembra por esquejes el desarrollo radicular es superficial y que la planta necesitaría un buen tutorado para evitar volcamientos en etapa de producción, lo que aumentaría costos de mantenimiento del cultivo. De acuerdo con la selección de semilla, el 69.2% de los productores la seleccionan en su propia finca y el 30.7% la compran a otros productores o proveedores. De los productores que seleccionan su propia semilla, el 100% realizan la selección empezando por la planta y tienen en cuenta características como: “mejor producción, planta sana y bien fortalecida, frutos sanos y con buen tamaño, resistencia a enfermedades, frondosa, que no tenga problemas en la raíz, la mejor granada y con lulo bien grueso”. Del 69.2% de los productores que seleccionan su propia semilla, el 15.4% no realiza ningún tratamiento de desinfección, mientras que el 53.6% realiza tratamientos de desinfección a la semilla. A continuación se mencionan algunos métodos utilizados por los productores (figura 16):

Figura . Procesos de desinfección de semillas realizados por los productores



Fuente: el presente trabajo, 2009.

Descripción de los procesos de desinfección:

a) “Se toma un lulo, se parte, se despulpa y se deja en agua durante 12 horas (figura 17). Luego se lava la semilla en cernidor, eliminando restos de pulpa, se pasan a un periódico durante 12 horas para secar las semillas, aplican químico a las semillas (el agroquímico lo trae el técnico extensionista de la casa comercial y desconocen el nombre), posteriormente las semillas se pasan al semillero”. Este proceso es el más utilizado por los productores

Figura . Lavado de la pulpa de lulo para selección de semilla



Fuente: el presente trabajo, 2009.

b) “Se toma el lulo, se despulpa, se lavan los restos de pulpa, se seca con papel periódico a la sombra por un día, para sembrarla en germinador se mezcla con lorsban (mezclada con lorsban la deja 3 – 5 días) y se siembra.

c) “Se escoge el lulo, se despulpa, se lava, se seca y se desinfecta con mertec”.

Además, se encontró que los sustratos más utilizados por los productores en la etapa de germinación y/o semillero son: tierra abonada (abonisa), turba en bandejas y “tierra negra seleccionada”, el 75% de los productores hacen semillero en piso (figura 18 a) y el 25 % de ellos colocan las semillas a germinar en vasos de plástico (figura 18b). Después de la siembra las semillas tardan en germinar entre 15 y 21 días.

Figura . Métodos utilizados para la germinación de semillas

a) Semillero en piso con tierra negra



b) Semillero con vasos plásticos



Fuente: el presente trabajo, 2009.

En estado de plántula los productores las colocan en un mejor sustrato dicen que “para evitar problemas de enfermedades en campo porque así la planta está bien nutrida, además si se la deja más tiempo embolsada se evitaría hacer muchas desyerbas en campo”, dejan que las plántulas alcancen una altura entre 10 – 15 cm en el embolsado y la siembran en campo. Los sustratos más utilizados para embolsar son: Tierra negra, tierra con gallinaza en proporción 3:1 y tierra con abono orgánico tipo bocashi. En Balboa, Argelia y Santa rosa después de 1,5 y 2 meses las plántulas son llevadas para siembra en campo con una altura aproximada de 15 cm. En Urubamba después de 3 y 4 meses las plántulas embolsadas son llevadas para la siembra en campo, no hay uniformidad en el material.

A los productores se les pregunto sobre el tipo de agroquímicos utilizados en la producción de lulo y se encontró:

Para control de gota *Phytophthora infenstans* (Mont.) de Bary., usan: Tairel, antracol, furadan, roxion, carbendacin, curzate, eltra, tamaron, derosal.

Preventivos para enfermedades fungosas: Dithane, manzate, ridomil, rodax

Insecticidas: Cipermetrinas, lorsban, babistin

Fertilizantes: eclipse total, eclipse boro, eclipse calcio, potafos para el buen cuajamiento y llenado de frutos”, revival, agrimin, 10-20-20, 25-4-24, abotec.

Sobre el desarrollo productivo de la planta ellos mencionan que la floración se presenta entre los 3 y 6 meses después de la siembra en campo y la cosecha se presenta entre los 8 y 11 meses posteriores a la siembra, por lo general el

productor cuando empieza el ciclo de producción cosecha cada 15 días. La producción de lulo en cada una de las parcelas de producción depende de las labores culturales que el agricultor lleva a cabo y puede cosechar entre 5 – 10 Kg de lulo por planta, mientras dura el ciclo de producción. La cosecha que obtiene quincenalmente el productor la vende, al intermediario “si el precio esta malo” o personalmente en una de las galerías del Municipio de Popayán (En La esmeralda o en la del Barrio Bolívar) si esta a “buen precio”.

5. CONCLUSIONES

Se validó en el laboratorio de biotecnología el protocolo propuesto por CIAT para la multiplicación de yemas de lulo, y se lograron obtener plántulas vigorosas mediante utilización del medio A sugerido en el protocolo.

Se logró obtener morfogénesis completa a los 35 días posteriores a la siembra de explantes de los clones PL-19, JY-E1 y PH-E1, el clon que presentó un mejor desarrollo fisiológico y morfológico fue el PL-19.

De los cuatro tipos de recipientes utilizados para la multiplicación de explantes, los mejores resultados se obtuvieron en aquellos que tenían capacidad de 237 ml (T₆), 250 ml (T₄ y T₃) y 500 ml (T₈), que corresponde respectivamente a recipientes tipo hit, mayonesa y tipo mermelada. Estos recipientes brindaron un buen espacio en el que las plántulas se pudieron desarrollar, el tamaño de los recipientes no inhibió su proceso de crecimiento y se obtuvo una altura ideal que ayudó a superar la etapa de aclimatación.

Respecto al tipo de sello, las plántulas lograron un mejor desarrollo morfológico en recipientes sellados con tapa + espumilla (recipientes con ventilación), contrario a lo observado en plántulas que fueron sembradas en recipientes sellados con vinipel (recipientes sin ventilación).

El vivero construido brinda un ambiente adecuado para la etapa de aclimatación de las plántulas *in vitro* de lulo, para ello se manejó: adecuada circulación de corrientes de aire evitando problemas de humedad y vientos fuertes. Buen control de la luminosidad que pudo evitar tasas altas de transpiración. Adecuado sistema de riego (nebulización y microaspersión) con el que se evitó causar daño mecánico en las plántulas que llegaron del laboratorio.

Con relación a la producción de material de siembra; aunque los productores realizan selección de plantas madres con base en las mejores características de producción y calidad de frutos, se presentan falencias en el proceso de desinfección de semillas y sustratos, ya que no tienen un protocolo establecido para dicha actividad.

6. RECOMENDACIONES

Para la propagación *in vitro* se debe tener en cuenta que para estandarizar un protocolo de micropropagación eficaz, debe buscarse primero la optimización de cada uno de los estadios del cultivo *in vitro*, desde el cultivo de plantas madres en el vivero hasta la obtención de plantas ya aclimatadas.

Debe tenerse en cuenta la influencia de factores como: condiciones óptimas de multiplicación, periodo de adaptación gradual y sistema de riego adecuado, para aumentar el porcentaje de sobrevivencia de las plántulas en la etapa de aclimatación.

Se recomienda realizar buenos procesos de desinfección tanto de los explantes como del sitio y material de trabajo.

Se sugiere seguir trabajando con sellos de tapa + espumilla para los recipientes que se vayan a utilizar en el proceso de micropropagación, además, se podrían evaluar otros materiales que ejerzan la función de sello en las tapas de los recipientes.

Realizar un seguimiento en campo del material vegetal propagado en laboratorio, para validar el proceso de multiplicación de explantes, y medir la aceptabilidad de las plántulas por parte de los productores.

Sería importante que los productores tengan en cuenta los resultados obtenidos en este estudio para evaluar la efectividad de utilizar instalaciones adecuadas en la producción de plántulas.

Trabajar con pequeños y medianos productores en el ajuste de un método de producción de lulo; donde se enfatice en la obtención, selección y desinfección, del material de siembra y de sustratos utilizados en el cultivo, a fin de mejorar la producción de lulo en el departamento del Cauca.

Se recomienda continuar con estos trabajos de investigación y que se proyecten a otros cultivos de frutales que sean de importancia económica para el departamento.

BIBLIOGRAFÍA

AFANADOR, A.M. Propagación *in vitro* a partir de meristemas de cinco variedades comerciales de clavel *Dianthus caryophyllus* L. Trabajo de grado Bióloga. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. 2005. p. 59 -74.

AGRAMONTE, D., JIMÉNEZ, F. y DITA, M. Aclimatación. En: PEREZ, J.N. Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. vol 1. Cuba: Instituto de biotecnología de plantas, 1998. p. 194 – 204.

ALVARADO, Y. Contaminación microbiana en el cultivo *in vitro* de plantas. En: PEREZ, J.N. Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. vol 1. Cuba: Instituto de biotecnología de plantas, 1998. p. 81 -102.

CARRILLO, M. Evaluación de diferentes sustratos en la aclimatación de *in vitro*-plantas de banano (*Musa* spp.) en la fase de vivero, bajo condiciones de sombreador. Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de agronomía. Instituto de Investigaciones Agrícolas. 2004. p. 9 -15.

CASSELLS, A.C. Problems in tissue culture. En: DERBEGH, P.C y ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation: Technology and Application. U.S.A: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 31-44.

CASTILLO, A. Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. [en línea]. Uruguay. INIA. 2004. [rev. 10 marzo 2008]. Disponible en Internet :
<[URL:http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad_382.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/lb/ad/2004/ad_382.pdf) ->.

COL, J.B; RODRIGO, G.N, GARCÌA, B.S y TOMES, R.S. Fisiología vegetal. En: CUZZUOL, G.R.; GALLO, L.A. y CROCOMO, O.J. Enraizamiento de cravo (*Dianthus caryophyllus* L. *in vitro* e *ex vitro*. Scientia Agrícola, 1996. no 53. p. 60-66.

CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, CORPOICA - REGIONALES 9 y 4. Manual técnico - El cultivo del Lulo.

ASOHOFrucol, CORPOICA y Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola. Manizales. 2002. p 4 –18.

DEBERGH, P.C y ZIMMERMAN, R.H. En: DERBEGH, P.C y ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation: Technology and Application. U.S.A: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.450 – 500.

ECHEVERRÍA, M., BRAVO, J. y BAÑÓN, M. Auxinas. En: AZCÓN BIETO, J. y TALÓN, M. Fundamentos de fisiología vegetal. 1ed. Barcelona (España): MCGRAW-HILL, 2001. p. 310 - 322.

FAL, M.A; MAJADA, J.P, GONZALEZ, A., y SÀNCHEZ, R. Differences between *Dianthus caryophyllus* L. cultivars *in vitro* growth and morphogenesis are related to their ethylene production. En: Plant growth regulators. No 27. p. 131 – 136.

FORY, P.A. Caracterización y análisis molecular de la diversidad genética de la colección colombiana de lulo (*Solanum quitoense* Lam) y seis especies relacionadas de la sección Lasiocarpa. Trabajo de grado Magister en Ciencias, área de énfasis en Recursos Filogenéticos Neotropicales. Palmira: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de post-gradados. 2005. 78 p.

HARTMANN, H.; KESTER, D.E., DAVIES, F.T., y GENEVE, R. Plant propagation principles and practices. 6 ed. New Jersey (U.S.A): Prentice Hall Inc., 1997. 747 p.

HARTMANN, H. y KESTER, E. Propagación de plantas, principios y prácticas. 4. ed. México. D.F.: Continental, 1995. 760 p.

HENDRIX, R.; LITZ, R., y KIRCHOFF, B. *In vitro* organogenesis and plant regeneration from leaves of *Solanum candidum*, *S. quitoense* (naranja) and *S. sessiliflorum*. En: Plant Cell Tissue and Organ Culture. 1987. no 11, p. 67-73.

HORN, W.; SCHLEGEI, G. y JOHN, K. *In vitro* stock plant culture of *Kalanchoe hybrids*. En: Acta Hort. 1988. p. 623-626.

HUSSEY, G. y STACEY, N. J. *In vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). En: Ann.Bot, 1981. no 48, p. 787-796.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Resolución No. 02407, del 22 de Octubre de 2002.

JIMÉNEZ, F. Aclimatización de plantas “*in vitro*” y producción de minituberculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en casas de cultivos. Trabajo de grado Magister Scientizae en Biotecnología Vegetal. Santa Clara (Cuba): Universidad Central de las Villas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. 2000. 147 p.

LAI-CHUOCHUN, YU-TSONGANN; YEH-SHYIDONG y YANG-JIUSHERNG. Enhancement of *in vitro* growth of papaya multishoots by aeration. En: Plant-Cell,-Tissue-and-Organ-Culture. 1998. vol 3, no 3, p. 221-225

LENTINI, Z., EARLE, E.D. y PLAISTED, R.L. Insect-resitant plants with improved horticultural traits from interspecific potato hybrids grown *in vitro*. En: Theoretical and Applied genetics. 1990. vol 1, no 80, p. 95-104.

LOBO, M. y MEDINA, C.I. Lulo o naranjilla (*Solanum quitoense* L), frutal andino con potencial de desarrollo. CORPOICA, 1999. Documento de trabajo.

MORTON, J. Fruits of warm climates. [en línea]. s.l. s.n.1987. [rev. 10 mayo de 2009]. Disponible en Internet: <URL:www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/naranjilla_ars.html>

MUÑOZ, M. A. Cultivo *in vitro* de plantas y su relación con la Biotecnología. [en línea]. Argentina. Programa educativo Por qué biotecnología. Cuaderno No 35. 2007. [rev. 15 mayo de 2009]. Disponible en Internet: <URL:www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/doc/EI%20Cuaderno%2035.doc ->

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. En: Annu Rev Plant Physiol. 1974. no 25, p. 135-166.

PÉREZ, M. y PASTELÓN, C. Establecimiento aséptico a partir de ápices de ginger (*Alpinia purpurata*). En: Reunión científica-tecnológica-forestal y agropecuaria. (14, 2001: Veracruz, México). Memorias. 2001. Veracruz. p. 42 – 81.

PIERIK, R. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. 1 ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. p. 325 – 326.

POEHLMAN, J.M. y ALLEN, D. Mejoramiento genético de las cosechas. 2 ed. México D.F: Noriega editores, 2003. p 146 - 148.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. y EICHHORN, S.E. Biology of plants. 6 ed. New York (U.S.A): W.H. Freeman and Company Worth Publishers, 1999. 944 p.

RIGHETTI, B., MAGNANNI, E., INFANTE, R. Y PEDREN, S. Ethylene, etanol acetaldehyde and carbon dioxide released by *Prunus avium* shoot cultures. En: Physiol Plant. 1990. no 78, p. 507-510.

ROCA, W. y MROGINSKY, L. Cultivo de tejidos para la producción de semilla básica de papa. En: Cultivo de tejidos en la Agricultura, fundamentos y aplicaciones. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p 457.

SATÍN, F. Taller sobre implementación y producción de viveros agroforestales. Fundación FACES. Loja (Ecuador). Octubre de 2005. p. 9-13.

SEGOVIA, V. Optimización de la regeneración de lulo (*S. quitoense* L), orientada a la transformación genética. Trabajo de grado Master en Biotecnología de Plantas. Palmira: Universidad Internacional de Andalucía (España) y Centro Internacional de Agricultura Tropical. 2002. 74 p.

SCHULTES, H. y CUATRECASAS, J. Notas del cultivo de lulo. Universidad de Harvard, Museo Botánico. U.S.A. 1962. p 97 - 105.

THOMAS, P., MYTHILI, J.B y SHIVASHANKARA, K.S. Explant, medium and vessel aeration affect the incidence of hyperhydricity and recovery of normal plantlets in triploid watermelon. En: Journal-of-Horticultural-Science-and-Biotechnology. 2000. vol 1, no 75, p. 19-25

TORRES, J.G. Micropropagation and acclimatization of *Heddioma multiflorum*. En: Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1999. no 48, p. 213-217.

TORTOSA, J.A. La turba su caracterización física y química, evaluación para cultivos en contenedor. En: Revista agrícola vegetal. 1999. no 106, p. 777 – 783.

VASQUEZ, A. Capítulo II, Vivero. [en línea]. s.l. Universidad del Tolima. 2000. [rev. en 15 abril de 2009]. Disponible en Internet:
<[URL:http://www.ut.edu.co/fif/0941/documentos/LIBRO%20ARMANDO%20VASQUEZ/CAP2.DOC](http://www.ut.edu.co/fif/0941/documentos/LIBRO%20ARMANDO%20VASQUEZ/CAP2.DOC) ->

VAZQUEZ, C. Los viveros. [en línea]. Secretaría de Educación Pública y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 1ª ed. México D.F. Fondo de Cultura Económica. 1997. [rev. en 12 marzo de 2009]. Disponible en Internet :
<[URL:http://www.omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm](http://www.omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm)>.

VIVAS, N. y MORALES, S. Evaluación agronómica y producción de grano de diez accesiones de guandul *Cajanus cajans* en la meseta de Popayán. En: Biotecnología en el sector agropecuario. vol 3, no. 1. 2005. p. 31 – 36.

ZACARÍAS, L. y LAFUENTE, M.T. Etileno, ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo. En: AZCÓN BIETO, J. y TALÓN, M. Fundamentos de fisiología vegetal. 1ed. Barcelona (España): McGRAW-HILL, 2001. p. 361-375.

ZOBAYED, J. y ARMSTRONG, W. Multiple shoot induction and leaf and flower bud abscission of *Annona* cultures as affected by types of ventilation. En: Plant-Cell, Tissue and Organ Culture. 2002. vol 2, no 69, p. 155-165.

Anexo

Preparación de soluciones Stock de micro y macrominerales

Stock 1 (Macros)		
Reactivo	g/200 ml	Molaridad
NH ₄ NO ₃	16.5	20.6 μM
KNO ₃	19	18.8 μM
MgSO ₄ *7H ₂ O	3.7	1.5 μM
KH ₂ PO ₄	1.7	1.25 μM
Stock 2 (Micros)		
Reactivo	g/100 ml	Molaridad
H ₃ BO ₃	0.62	100 μM
Mn SO ₄	1.69	100 μM
Zn SO ₄ *7 H ₂ O	0.86	29.9 μM
NaMoO ₄ *2 H ₂ O	0.025	1.03 μM
Cu SO ₄ *5 H ₂ O	0.0025	0.1 μM
CoCl ₂ *6 H ₂ O	0.0025	0.105 μM
Stock 3 (Yodo)		
Reactivo	g/100 ml	Molaridad
KI	0.083	5 μM
Stock 4 (C-Calcio)		
Reactivo	g/100 ml	Molaridad
CaCl ₂ *2 H ₂ O	14.666	2.99 μM
Stock 5 (Hierro)		
Reactivo	g/200 ml	Molaridad
Na ₂ EDTA	1.492	100 μM
FeSO ₄ *7 H ₂ O	1.114	100 μM

Anexo

Preguntas base para la entrevista realizada a productores sobre la producción de material de siembra en lulo

1. Datos personales:

Nombre: _____ Vereda: _____
Municipio: _____ Corregimiento: _____

2. Componente físico:

¿Cuántas plantas de lulo tiene en su finca? _____
¿Cuál es el área sembrada en lulo? _____

3. Componente socioeconómico

¿Ha asistido a cursos de capacitación en lulo? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No
¿Cuáles y en donde? _____
¿Qué tipo de mano de obra emplea en las labores de su finca? <input type="checkbox"/> Familiar <input type="checkbox"/> Contratada
¿Hace cuantos años siembra lulo? _____

4. Tecnología local de producción

¿Qué variedades de lulo siembra?

¿Con qué frecuencia multiplica el material para sembrar lulo?

¿Cuál es la época de siembra (mes)?

¿Qué tipo de semilla emplea? <input type="checkbox"/> Sexual <input type="checkbox"/> Vegetativa (Estacas, chupones, etc)
¿Cómo consigue la semilla? <input type="checkbox"/> Con otros productores <input type="checkbox"/> En su misma finca
Otro

proveedor _____

¿Selecciona plantas y frutos para semilla? Si No

Que características busca en la planta seleccionada?

¿Hace algún tratamiento a la semilla? Si No

¿Cuál? _____

Que sustrato utiliza para plantas en germinación?

Cuanto tardan las semillas en germinar?

Que sustrato utiliza para embolsar?

A los cuantos días después son llevadas para la siembra en campo?

¿Qué tipo de agroquímicos utiliza en el cultivo y para qué?

¿A los cuantos meses después de la siembra se presenta la floración?

¿A los cuantos meses después de la siembra se presentan los primeros frutos?

¿A los cuantos meses después de la siembra se presenta la cosecha?

¿Cada cuanto cosecha?

Anexo

ANOVA de los efectos de los tratamientos sobre cada una de las variables evaluadas

Efecto de los tratamientos sobre la altura en plantas *in vitro* de lulo a los 35 días después de la siembra.

Clon PL-19

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	28,441	4,063	6,353	2,7	2,16
ERROR	16	10,233	0,640			
TOTAL	23	38,675				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon JY-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	8,218	1,174	3,724	2,7	2,16
ERROR	15	4,728	0,315			
TOTAL	22	12,947				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon PH-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	7,336	1,048	2,563	2,7	2,16
ERROR	15	6,133	0,409			
TOTAL	22	13,469				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

ANOVA de los tratamientos sobre el número de hojas en plantas *in vitro* de lulo a los 35 días después de la siembra

Clon PL-19

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	27,323	3,903	2,327	2,7	2,16
ERROR	16	26,833	1,677			
TOTAL	23	54,156				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon JY-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	9,413	1,345	2,017	2,7	2,16
ERROR	15	10,000	0,667			
TOTAL	22	19,413				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon PH-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	16,101	2,300	2,798	2,7	2,16
ERROR	15	12,333	0,822			
TOTAL	22	28,435				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

ANOVA de los tratamientos sobre el número de nudos en plantas *in vitro* de lulo a los 35 días después de la siembra

Clon PL-19

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	18,156	2,594	1,415	2,7	2,16
ERROR	16	29,333	1,833			
TOTAL	23	47,490				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon JY-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	14,520	2,074	3,124	2,7	2,16
ERROR	15	9,958	0,664			
TOTAL	22	24,478				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon PH-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	19,143	2,735	4,666	2,7	2,16
ERROR	15	8,792	0,586			
TOTAL	22	27,935				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

ANOVA de los tratamientos sobre el número de raíces en plantas *in vitro* de lulo a los 35 días después de la siembra

Clon PL-19

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	63,906	9,129	2,265	2,7	2,16
ERROR	16	64,500	4,031			
TOTAL	23	128,406				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon JY-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	17,957	2,565	4,050	2,7	2,16
ERROR	15	9,500	0,633			
TOTAL	22	27,457				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Clon PH-E1

FUENTES DE VARIACIÓN	G.L	S.C.	C.M	f.c	ft (5%)	ft (10%)
TRATAMIENTOS	7	19,109	2,730	2,275	2,7	2,16
ERROR	15	18,000	1,200			
TOTAL	22	37,109				

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Anexo

Prueba de Duncan realizada para las variables evaluadas en los clones PL-19, PH-E1 y JY-E1.

Efecto de los tratamientos sobre la altura en plantas *in vitro* de lulo, a los 35 días después de la siembra

CLON PL-19		CLON JY-E1		CLON PH-E1	
Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35
T ₈	5,867 a	T ₃	3,350 a	T ₆	3,233 a
T ₆	5,150 b	T ₄	2,717 b	T ₈	3,033 b
T ₃	3,767	T ₈	2,433	T ₁	2,150
T ₁	3,450	T ₅	2,333	T ₂	2,033
T ₅	3,383	T ₆	2,167	T ₃	1,967
T ₂	3,183	T ₁	2,050	T ₇	1,950
T ₄	2,875	T ₇	1,683	T ₄	1,650
T ₇	2,350	T ₂	1,617	T ₅	1,617

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Efecto de los tratamientos sobre el número de hojas en plantas *in vitro* de lulo, a los 35 días después de la siembra

CLON PL-19		CLON JY-E1		CLON PH-E1	
Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35
T ₈	7,500 a	T ₅	6,333 a	T ₆	5,333 a
T ₄	7,250 b	T ₃	5,833 a	T ₈	5,167 b*
T ₂	6,500	T ₄	5,500 b	T ₇	4,833 b*
T ₁	6,333	T ₁	5,167 b	T ₃	4,500 b*
T ₅	6,000	T ₇	4,833	T ₁	3,833
T ₆	5,500	T ₈	4,833	T ₂	3,833
T ₇	4,667	T ₂	4,167	T ₅	3,500
T ₃	4,500	T ₆	3,333	T ₄	2,500

Promedios con letras iguales, indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, según Test de Duncan (P=0,05).

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Efecto de los tratamientos sobre el número de nudos en plantas *in vitro* de lulo, a los 35 días después de la siembra

CLON PL-19		CLON JY-E1		CLON PH-E1	
Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35
T ₈	7,000 a	T ₃	5,333 a	T ₈	4,667 a
T ₆	5,833	T ₅	4,500 b	T ₆	4,500 b
T ₄	5,750	T ₈	4,500 b	T ₇	3,500
T ₁	5,000	T ₄	4,333 c	T ₃	3,167
T ₅	4,833	T ₁	4,167	T ₂	3,000
T ₂	4,667	T ₂	3,167	T ₁	2,333
T ₃	4,500	T ₆	2,667	T ₄	2,250
T ₇	4,167	T ₇	2,833	T ₅	2,167

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Efecto de los tratamientos sobre el número de raíces en plantas *in vitro* de lulo, a los 35 días después de la siembra

CLON PL-19		CLON JY-E1		CLON PH-E1	
Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35	Tratamientos	Día 35
T ₂	8,500 a	T ₃	4,833 a	T ₁	4,167 a
T ₆	7,000	T ₄	4,833 a	T ₈	3,833 b
T ₈	7,000	T ₁	3,833 b	T ₆	3,833 b
T ₁	6,000	T ₈	3,667 b	T ₃	3,667 b
T ₄	4,750	T ₂	2,833	T ₇	3,333
T ₅	4,500	T ₅	2,667	T ₅	2,167
T ₃	3,667	T ₇	2,500	T ₂	2,000
T ₇	3,667	T ₆	2,000	T ₄	1,500

Fuente: el presente trabajo, 2009.

Anexo

Presupuesto para la construcción de vivero (9m x 6m) para multiplicación de material de siembra.

DESCRIPCIÓN	DETALLE	CANTIDAD	Vr/UNIT.	Vr/TOTAL
Riego				
Tubo (PVC)	1/2"	8	5.500	44.000
Registro	1/2"	4	4.800	19.200
T	1/2"	6	300	1.800
Uniones	1/2"	4	300	1.200
Codo 90°	1/2"	8	300	2.400
Tapones	1/2"	4	300	1.200
Llave de paso		1	9.500	9.500
Pegante (PVC)		1	4.900	4.900
Limpiador (PVC)		1	2.500	2.500
Cinta para tuberías		2	1.500	3.000
Nebulizadores (4mm) - d 80 cm		6	1.500	9.000
Microaspersores		5	2.200	11.000
Materiales para cerrar				
Polisombra 80%	M	15	6.300	94.500
Plástico - calibre 7	Kg	35	9.500	332.500
Varilla roscada 3/8	M	15	2.200	33.000
Arandelas y tuercas		160	90	14.400
Tensores 3/8		6	1.400	8.400
Puntillas 2" (caja)		1	1.500	1.500
Ganchos - grapadora industrial (caja)		1	9.500	9.500
Alambrón No 8	Kg	8	3.900	31.200
Alquitrán	Kg	1	3.800	3.800
Alambre dulce	Kg	1	3.500	3.500
Techo (Eucalipto)				

Vigas - 5m		14	15.000	210.000
Tiras - 2 x 4 cm		9	1.000	9.000
Posteadura		12	15.000	180.000
Inmunizante para madera	Galón	2	5.000	10.000
Piso rustico - Preparación de sustratos para siembra				
Arena Mixta	m	1	42.000	21.000
Grava	m	0,5	50.000	25.000
Arena fina	m	0,5	42.000	21.000
Cemento	Bulto	3	19.500	58.500
Camas de producción y crecimiento				
Guadua	6 m	70	6.000	420.000
Sub-total				1.566.500
Imprevistos 10%				156.650
TOTAL				1.753.150

** Presupuesto con base en precios de 2008*